N° d'ordre : A O 7399

II

THESE

présentée

A LA FACULTE DES SCIENCES

DE L'UNIVERSITE D'AIX-MARSEILLE

Pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ES SCIENCES PHYSIQUES

par

André R E Y

Docteur d'Etat en Pharmacie

R E C E P T E U R M U S C A R I N I Q U E :

AGONISTES, AGONISTES PARTIELS et ANTAGONISTES

(Synthèse, Pharmacologie et Relations Structure-Activité)

---

soutenue le 8 juillet 1972 devant la Commission d'Examen

Jury	MM.	J.	METZGER	Président
		E.J.	VINCENT	Examinateurs
		R.	PHAN TAN LUU	Examinateurs
		A.	BOUCHERLE	Invités
		M.	HANSS	Invités

DEUXIEME PARTIE

RESULTATS PHARMACOLOGIQUES

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Nous avons étudié l'action muscarinique des produits décrits dans la première partie. Cette étude s'inscrit dans le contexte de la pharmacologie moléculaire et plus particulièrement dans le cadre des théories et des méthodes définies par E.J. ARIENS - (1) (2).

Nous avons antérieurement analysé les diverses approches utilisées dans l'étude des récepteurs pharmacologiques (3) et passé en revue les travaux concernant les récepteurs de l'acétylcholine (4) (5) ; nous ne reviendrons pas dans l'ensemble sur ces différents points. Toutefois, nous ferons précéder les résultats obtenus par l'exposé de la méthode utilisée tant au niveau théorique que technique.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545827_0008

CHAPITRE I

METHODOLOGIE

A PRINCIPES GENERAUX DE L'EMPLOI DES ORGANES ISOLES DANS L'ETUDE DES RECEPTEURS

In vivo, un médicament n'atteint son point d'impact qu'après un parcours complexe dans l'organisme (" Phase pharmacocinétique ") (6). Dans ce trajet il peut être transformé chimiquement. De plus, lorsqu'il parvient à son récepteur, il est pratiquement impossible de connaître sa concentration dans la biophase. Dans ces conditions, on ne peut étudier précisément les systèmes médicament-récepteur qu'en réduisant au maximum la " phase pharmacocinétique ". Cette nécessité justifie l'emploi de préparations d'organes isolés; toutefois, il est fréquent que ces dernières ne permettent pas d'appréhender les constantes moléculaires réelles de l'interaction médicament récepteur.

I - DEFINITIONS.-

I°/- La courbe dose-action [action = f (-log dose)] de nombreux médicaments est une sigmoïde de point d'inflexion K. (fig.1

Les médicaments actifs se différencient :

- par l'abscisse de K
- par leur action maximum

Les substances qui peuvent donner un effet maximum sont dites AGONISTES, celles qui ne donnent qu'un effet inférieur sont AGONISTES PARTIELS. Enfin, sont ANTAGONISTES, les produits qui n'exercent seuls aucun effet apparent, mais ont la propriété de modifier la courbe de stimulation des agonistes.

2°/- Certains antagonistes décalent les courbes de stimulation : ils sont dits antagonistes compétitifs. D'autres produisent

../..

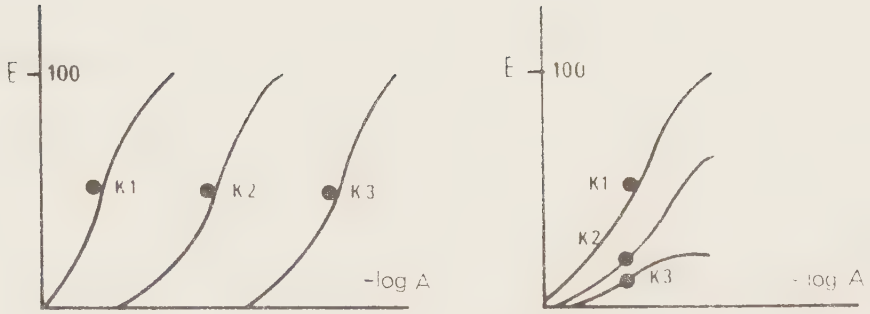


Figure 1 Agonisme

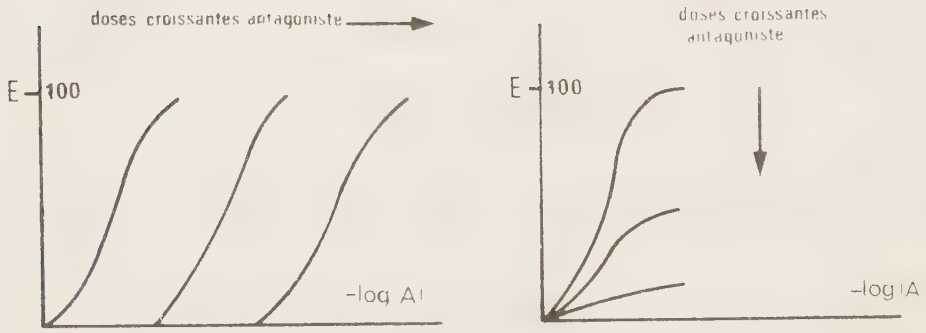


Figure 2 Antagonisme

un affaissement des mêmes courbes, ils sont dits antagonistes non compétitifs (figure 2).

Dans un cas comme dans l'autre, il suffit de laver la préparation pour que les effets antagonistes disparaissent tout à fait. Lorsque ces effets persistent, l'antagoniste est dit irreversible.

II - HYPOTHESES SUR L'AGONISME (7) (8) (9).

En supposant que les récepteurs soient en phase homogène, on peut admettre qu'un agoniste A se combine à un récepteur R pour donner un complexe RA selon l'équation :

$$A + R \rightleftharpoons RA$$

Pour un tel équilibre on peut définir une constante de dissociation K_A telle que :

$$K_A = \frac{[R]\ [A]}{[RA]}$$

Par ailleurs, si le complexe RA est à l'origine d'un stimulus S_A défini par :

$$S_A = g\,[RA]$$

on atteindra une valeur S_A max lorsqu'en élevant suffisamment la concentration $[A]$ R sera entièrement transformé en RA.

Soit $[r]$ la valeur de la concentration en récepteur total :

$$S_A \ \max = g\ [r]$$

ainsi $$\frac{S_A}{S_A \max} = \frac{[RA]}{[r]} = \frac{1}{1 + \frac{K_A}{[A]}}$$

Pour rendre compte de valeurs inégales de l'effet lorsque l'occupation est identique on recourt à un terme supplémentaire α appelé par ARIENS activité intrinsèque

$$\frac{S_A \ \max}{S \ \max} = \alpha$$

../..

(si α = 1 les produits sont agonistes, si $0 < \alpha < 1$ ils sont agonistes partiels, si $\alpha = 0$ ils sont antagonistes).

si bien qu'en définitive

$$\frac{S_A}{S\ max} = \frac{\alpha}{I + \frac{K_A}{[A]}}$$

En admettant que la relation entre stimulus et effet soit linéaire

$$E_A = h\ S_A$$

$$E_A max = h\ S_A\ max$$

$$\frac{E_A}{E\ max} = \frac{\alpha}{I + \frac{K_A}{[A]}}$$

Ainsi dans cette hypothèse un médicament A sera caractérisé par deux paramètres

1) Son affinité (dont la constante K_A est l'expression) qui traduit sa capacité à se fixer sur le récepteur

2) Son activité intrinsèque (α) qui représente son aptitude à stimuler le récepteur sur lequel il s'est fixé.

La détermination expérimentale simple de K_A et α n'est accessible qu'à partir de l'effet.

Ainsi on écrira : $\alpha = \frac{E_A\ max}{E\ max}$

$$pK_A = -\log [A] \text{ si } E_A = \frac{1}{2}\ E_A\ max$$

(Le pD_2 est par définition la valeur $-\log [A]$, lorsque $[A]$ est la concentration qui produit un effet 50% de l'effet maximum possible d'un médicament donné).

../..

Critiques :

Les hypothèses précédentes sont contestables pour trois raisons principales :

I°- Il est peu probable que R soit en phase homogène et de plus la concentration dans la biophase est vraisemblablement différente de ce qu'elle est dans la solution où baigne l'organe isolé.

2°- Il n'est pas certain que le stimulus soit proportionnel au degré d'occupation du récepteur ; il existe une réserve de récepteurs.

3°- La relation entre stimulus et effet n'est sans doute pas linéaire.

Sur ce dernier point par exemple, PATON (10) se plait à remarquer, dans le cas des effets cholinergiques, que la combinaison médicament-récepteur entraîne pour le moins les séquences suivantes :

a) changement de conductance de la membrane
b) changement du potentiel de membrane
c) mouvements ioniques
d) activation du mécanisme contractile
e) effet

Dans ces conditions, il peut paraître à juste titre exceptionnel que le taux de combinaison médicament-récepteur soit proportionnel à l'effet.

Corrections

1) Recherche du pK_A réel

Certains médicaments sont capables de réaliser un blocage irréversible des récepteurs en donnant avec eux des liaisons covalentes. Il est très curieux de constater que l'occupation irréversible d'une partie importante des récepteurs n'empêche pas un organe isolé de fournir une réponse maximum. Cela conduit à considérer qu'une partie seulement des récepteurs est nécessaire pour produire un effet maximum. En d'autres termes il existe une réserve de

../..

récepteurs. Ainsi, par détermination directe, le pK_A sera surestimé : il est très fréquent que le pD_2 soit très éloigné des valeurs réelles de pK_A .

Pour ces raisons on distinguera pD_2 ou pK_A apparent et pK_A^S ou pK_A corrigé.

La méthode de détermination de pK_A^S (figure 3) repose sur l'emploi d'agents irréversibles. Supposons qu'un agoniste donne la courbe O avant traitement par le produit irréversible et I après traitement. Déterminons les concentrations $[A]_o$ et $[A]_i$ produisant un effet identique avant et après traitement et portons en ordonnée leur rapport $\frac{[A]_o}{[A]_i}$ et en abscisse $[A]_i$: on obtient une droite.

On peut démontrer que l'intersection de l'axe des abscisses correspond à un terme $K_A \frac{y}{1-y}$, alors que celle avec l'axe des ordonnées correspond à la valeur y.
On calcule aisément K_A^* et de là $pK_A^S = -\log K_A$

(N.B. - On peut considérer qu'il s'agit encore d'une constante de dissociation apparente dans la mesure où la concentration dans le bain est supposée égale à la concentration dans la biophase).*

.. ..

Ainsi qu'en témoignent les quelques résultats suivants dus à VAN ROSSUM les valeurs de pK_A^S sont fréquemment fort différentes de pD_2

	pD_2	pK_A^S
Furthretonium	5,8	4,5
Histamine	6,6	5,1
(-) Noradrenaline	5,2	4,2
Serotonine	6,7	6,6

2) Recherche d'une activité intrinsèque indépendante de la relation stimulus - effet

On distinguera deux activités intrinsèques α^E et α^S

a) $\alpha^E = \frac{E_A \text{ max}}{E \text{ max}}$

b) En principe $\alpha^S = \frac{S_A \text{ max}}{2 \text{ Spmax}}$

Spmax étant le stimulus maximum engendré par un agoniste potentiel hypothétique qui aurait un effet maximum égal à 1/2 Emax

En pratique on emploie pour calculer α^S la formule suivante :

$$\alpha^S = 1/2 \left(1 + 10^{pD_2 - pK_A^S} \right)$$

Voici à titre d'exemple quelques valeurs citées par VAN ROSSUM (7) :

	α^E	α^S
Furthrétonium	1,0	6-8
Histamine	1,0	8 -24
Adrénaline	1,0	3,5-11
Sérotonine	1,0	0,9

III - HYPOTHESES SUR L'ANTAGONISME

Remarque préliminaire :

L'antagonisme est un phénomène susceptible de survenir dans de nombreuses étapes de l'action pharmacologique.

1) Antagonisme chimique : L'antagoniste réagit directement sur l'agoniste.

2) Antagonisme fonctionnel et physique : Deux médicaments stimulent deux systèmes récepteur-effecteur dont les effets sont antagonistes (ex : Sympathique et Parasympathique).

3) Antagonismes compétitif et non competitif

Ils peuvent concerner les protéines plasmatiques de transport ou encore les sites silencieux. Nous n'étudierons ici que les phénomènes d'antagonisme siégeant sur les récepteurs.

1) Hypothèses générales (7) (8) (9)

Si la relation entre stimulus et effet de l'agoniste reste linéaire, on peut expliquer l'influence d'un antagoniste

../..

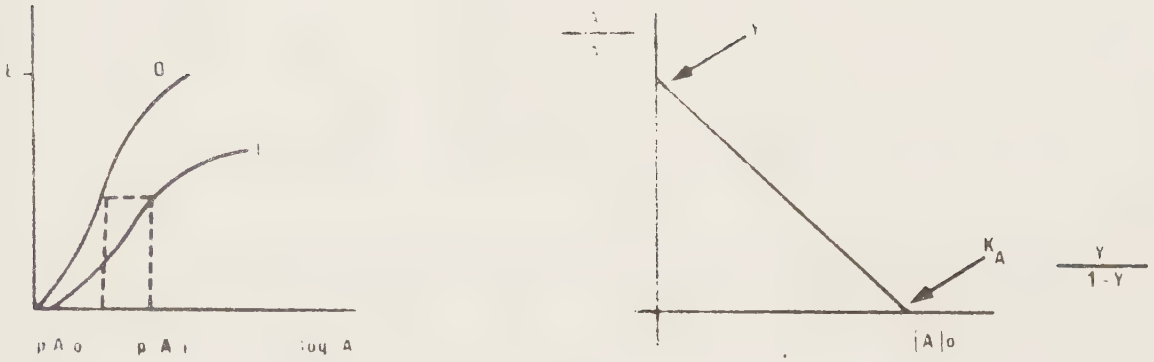


Figure 3

Détermination du pK_A réel.

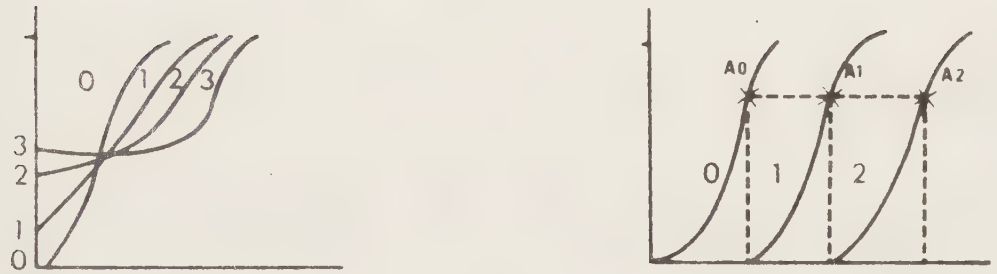


Figure 4

Interactions compétitives.

Compétition dualiste
0 : absence d'agoniste partiel
1,2,3 représentent des doses croissantes d'agoniste partiel

b Antagonisme compétitif
0 : absence d'antagoniste
1,2 représentent des doses croissantes d'antagoniste

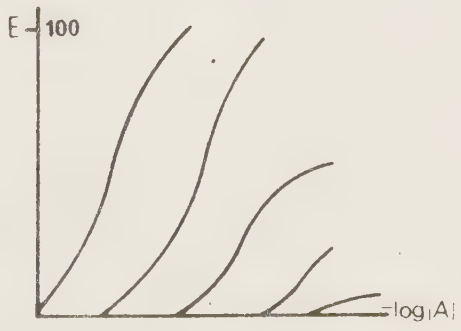


Figure 5

Antagonisme compétitif - métactoïde

a)- Comme un changement d'affinité

$$\frac{E_{AB}}{Emax} = \frac{\alpha}{1+\frac{K_A}{[A]}\rho(B)}$$

B = Antagoniste

E_{AB} = effet en présence de A et B

b)- Comme un changement d'activité intrinsèque

$$\frac{E_{AB}}{Emax} = \frac{\alpha\ \rho(B)}{1+\frac{K_A}{[A]}}$$

Bien entendu, il existe des cas intermédiaires.

2) Modèles d'interactions compétitives

L'antagoniste B et l'agoniste A agissent sur un même récepteur.

sachant que $A + R \rightleftharpoons RA$ $\quad (K_A, \alpha)$ agoniste

$B + R \rightleftharpoons RB$ $\quad (K_B, \beta)$ antagoniste

On distinguera plusieurs types :

si $\beta^E \neq \alpha^E$: synergie compétitive

si $0 < \beta < 1$: compétition dualiste (figure 4 a)

enfin lorsque $\beta = 0$, il s'agit d'un antagoniste compétitif (figure 4b) caractérisé par le modèle suivant :

$$\frac{E_{AB}}{Emax} = \frac{\alpha}{1+\left(1+\frac{[B]}{K_B}\right)\frac{K_A}{[A]}}$$

../..

Dans l'antagonisme compétitif, le décalage observé ne dépend que de la concentration et de l'affinité de l'antagoniste. En particulier, il est indépendant de la relation stimulus-effet de l'agoniste. Cela d'ailleurs que le point d'impact de l'agoniste et de l'antagoniste soient ou non identiques.

Cette notion est à l'origine d'une méthode d'évaluation de l'affinité des antagonistes qui ne semble pas contestée jusqu'ici.

Si A_o et A_1 sont deux doses d'agonistes donnant un effet égal en l'absence puis en présence d'antagoniste

$$\frac{E_{Ao}}{E\ max} = \frac{E_{A_1B}}{E\ max} \quad \text{soit} \quad \frac{\alpha}{I + \frac{K_A}{[A]_o}} = \frac{\alpha}{1 + (1 + \frac{[B]}{K_B}) \frac{K_A}{[A]_1}}$$

$$\frac{K_A}{[A]_o} = \frac{K_A}{[A]_1} \left(1 + \frac{[B]}{K_B} \right)$$

$$\text{si} \quad \frac{[A]_1}{[A]_o} = DR \qquad (DR = \text{Dose Ratio})$$

$$DR = \frac{K_B + [B]}{K_B}$$

$$DR\ K_B - K_B = [B]$$

$$K_B\ (DR - 1) = [B]$$

$$-\log K_B = -\log B + \log (DR - 1)$$

On désigne habituellement $-\log K_B$ par pA_2

../..

3) Modèles d'interactions non compétitives

Différents types existent ayant en commun le fait que l'antagoniste B' réagit avec ses propres récepteurs R' qui ne sont pas ceux de l'agoniste. Pourtant cette interaction ne produit pas d'effet direct. Tout ce qu'on peut observer, c'est un changement dans la relation dose-effet de l'agoniste.

$$R + A \rightleftharpoons RA \qquad (K_A , \alpha)$$

$$R' + B' \rightleftharpoons R'B' \qquad (K'_B , \beta')$$

a) Antagonisme métaffinoïde

C'est l'affinité de l'agoniste qui est modifiée. On peut prévoir un décalage des courbes dose-réponse analogue à celui de l'interaction compétitive. Toutefois, ce décalage ne dépasse pas certaines limites.

b) Antagonisme métactoïde

Tout se passe comme si l'activité intrinsèque de l'agoniste était modifiée. Il est possible que les points d'impacts de ces antagonistes soient situés entre le récepteur et l'effecteur.

$$E_{AB'_{max}} = pE_A$$

p = valeur caractéristique de la série

$E_{AB' \text{ max}}$ = Effet maximum en présence de l'antagoniste B'

$$\frac{E_{AB'}}{E_{max}} = \left(1 + (p-1)\ \frac{\beta'}{1 + \frac{K'_B}{[B']}}\right) \frac{\alpha}{I + \frac{K_A}{[A]}}$$

si $\beta' = 1$ et $p = 0$

../..

$$\frac{E_{AB'}}{E_{max}} = \frac{1}{I + \frac{[B']}{K'_B}} \cdot \frac{\alpha}{1 + \frac{K_A}{[A]}}$$

L'affinité est souvent caractérisée par l'indice pD'_2. pD'_2 est par définition égal à $-\log [B']$ si $[B']$ est la concentration qui provoque 50% de l'effet maximum que B' est susceptible de produire.

4) Dualisme dans l'antagonisme

L'affinité dualiste la plus fréquente est du type compétif-métactoïde.
On observe alors des courbes du type représenté par la figure 5.

../..

B DESCRIPTION DE LA TECHNIQUE UTILISEE

Nous avons employé la méthode définie par Van ROSSUM et Van den BRINK (11) (12). Dans le cas du récepteur muscarinique, l'organe isolé préconisé par ces auteurs pour sa spécificité est le jejunum de rat : les agonistes provoquent une contraction inhibée par les antagonistes.

La principale originalité des protocoles de Van ROSSUM et Coll. réside dans la réalisation de courbes dose-action cumulatives.

Les courbes doses-action permettent assez rapidement d'obtenir deux séries d'enseignements :

1°/- typage des produits essayés à partir de l'allure des courbes ;

2°/- détermination de divers indices.

Dans les séries étudiées, nous nous sommes limités à la détermination des indices suivants : pD_2 , pA_2 , pD'_2 et α^E . Par conséquent, le seul paramètre de signification moléculaire est pA_2 encore que ses valeurs ne traduisent qu'une affinité apparente puisqu'en toute rigueur la concentration dans la biophase demeure inaccessible.

../..

I - PROTOCOLE EXPERIMENTAL

1) Jéjunum

Les rats (mâles, de souche "Wistar") sont à jeun depuis 24 heures. Leur poids est de 200 à 250 g ; ils sont assommés puis décapités. Le jéjunum est prélevé et lavé intérieurement par injection de solution de Tyrode. On utilise des fragments longs de 1,5 à 2 cm.

2) Appareillage

On opère dans une cuve de 10 cm^3 décrite par Van ROSSUM (11) (12) - cf figure 6 -

Cette cuve est thermostatée à $37° \pm$ 0.5.

On utilise un levier isotonique ; amplification 20 ; surcharge à l'équilibre de l'ordre de 0,40 g. Le levier peut posséder avec avantage une vis de blocage qui est utilisée de manière à éviter toute distension du jéjunum lors du lavage.

On enregistre le graphique sur rouleau au noir de fumée. La vitesse de rotation est de 2 à 5 mm/mn.

3) Réactifs

a/- Oxygène pur

Outre la fonction respiratoire, l'oxygène assure l'agitation du liquide de Tyrode et par là le mélange des produits ajoutés.

b/- Solution de Tyrode (13) (14).

Solution A : NaCl : 8,0 g ; KCl : 0,2 g ; $CaCl_2$: 0,2 g $MgCl_2$ = 0,1 g. On dissout dans 500 cm^3 environ d'eau distillée

Solution B : $Na\ H_2\ PO_4$ = 0,05 g ; $Na\ H\ CO_3$ = 1,0 g. On dissout dans 250 cm^3 d'eau distillée.

Les deux solutions A et B sont mélangées et on complète à 1000 cm^3.

Avant l'usage, on ajoute : glucose = 1 g.

4) Réactifs étalons a) solutions mères

../..

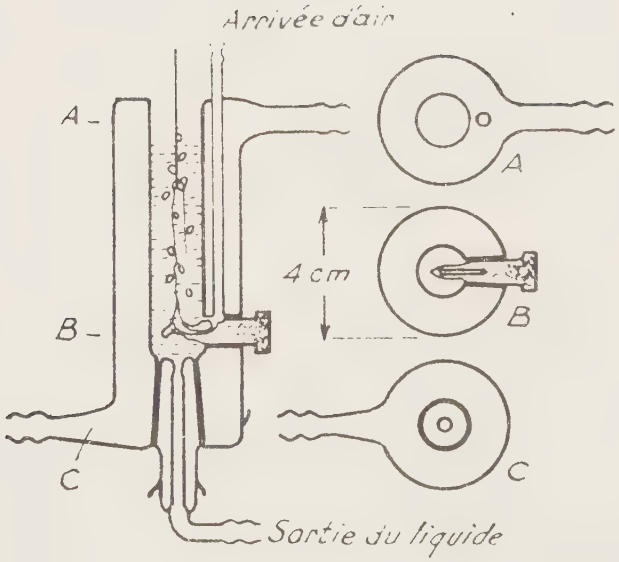


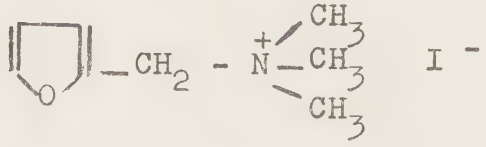
figure 6

Cuve de van Rossum

α) Agonistes

furthretonium (iodure M=267) 10^{-1} M (SA_1)

On dissout 2,67 g dans 100 cm3 d'eau distillée

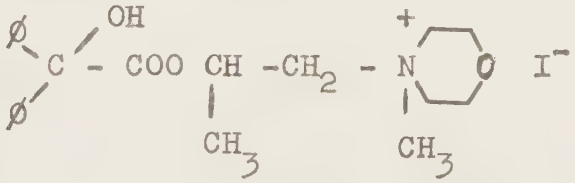


β) Antagonistes

.atropine (sulfate M = 694,9) IO^{-3} M

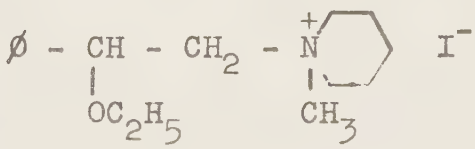
On dissout 34,7 mg dans 100 cm^3 d'eau distillée.

. N(benzilate-2'méthyl-2'éthyl) ,Nméthyl morpholinium (iodure M=497) IO^{-3} M.



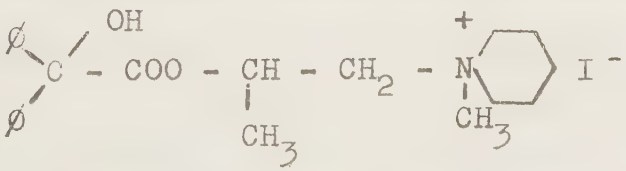
On dissout 49,7 mg dans 100 cm^3 d'eau distillée.

. N(phényl-2',éthoxy-2'éthyl) ,Nméthyl pipéridinium (iodure M = 375)



On dissout 37,5 mg dans 100 cm^3 d'eau distillée.

. N(phényl-2',éthoxy-2'éthyl, ,N méthylpipéridinium (iodure M = 495)



On dissout 49,5 g dans 100 cm^3 d'eau distillée.

../..

b) solutions diluées

Elles sont préparées extemporanément par dilution en cascade dans des tubes à essais contenant 9 cm^3 de solution de tyrode. Ces solutions ne sont pas conservées plus de 24 heures.

Le furthrétonium est dilué comme suit :

SA_2	$IO^{-2}M$
SA_3	$IO^{-3}M$
SA_4	$IO^{-4}M$
SA_5	$IO^{-5}M$

On ajoute dans la cuve, les quantités suivantes :

quantités ajoutées	(A) Mole . ℓ^{-1} dans la cuve	- log (A) = pA
0,10 cm^3 SA_5	IO^{-7}	7.0
0,20 cm^3 SA_5	$3.IO^{-7}$	6.5
0,07 cm^3 SA_4	IO^{-6}	6.0
0,20 cm^3 SA_4	$3.IO^{-6}$	5.5
0,07 cm^3 SA_3	IO^{-5}	5.0
0,20 cm^3 SA_3	$3.IO^{-5}$	4.5
0,07 cm^3 SA_2	IO^{-4}	4.0
0,20 cm^3 SA_2	$3.IO^{-4}$	3.5
0,07 cm^3 SA_1	IO^{-3}	2.5

De manière à limiter les erreurs par dilution on s'efforce de ne pas dépasser 6 additions. Avec le furthrétonium, dans la bonne zone, 4 points suffisent en général.

5) Stabilisation du jéjunum

Un fragment de jéjunum est accroché dans la cuve contenant la solution de tyrode ; le jéjunum est oxygéné et lavé 4 fois pendant 15 mn environ (temps global). Après le quatrième lavage, on place dans la cuve IO cm^3 de solution de tyrode mesurés à la pipette.

../..

Lorsque la température est équilibrée, on vérifie que la position du levier est stable. L'enregistrement graphique est mis en route et on ajoute le furthretonium par doses croissantes (voir paragraphe précédent). On attend que le palier correspondant à chaque concentration soit atteint pour passer à la concentration suivante jusqu'à ce que la dernière dose ne provoque aucune nouvelle contraction. Lorsque le maximum de la courbe est atteint, l'enregistrement graphique est stoppé. On lave le jéjunum pendant 5 à 10 minutes en 4 fois avec du liquide de tyrode. L'ensemble des opérations est renouvelé jusqu'à ce que deux courbes consécutives soient à peu près identiques.

6) Etude d'une série de produits nouveaux

a)- les dilutions suivantes sont préparées dans l'eau distillée : 10^{-8}M , 10^{-6}M, 10^{-4}M, 10^{-2}M.

b)- on recherche d'abord l'action agoniste en introduisant successivement dans la cuve les solutions précédentes par quantités de 0,1 cm^3. On note alors l'un des résultats suivants: aucune réaction, élévation maximum à la dose b,autoinhibition etc.

c)- si l'élévation maximum n'a pas été obtenue, on introduit des doses croissantes de furthretonium. Selon le phénomène observé, on pourra noter : produit inactif, antagonisme compétitif (décalage de l'ordre de 10^{-m}) antagonisme non compétitif (affaissement de l'ordre de n%).

C'est à partir des essais semi-quantitatifs précédents que sont précisées les conditions dans lesquelles seront pratiqués les essais quantitatifs ultérieurs :

- étude de l'action agoniste ou antagoniste ;
- choix des concentrations.

7) Réalisation d'une série d'essais quantitatifs

Lorsque le jéjunum est stabilisé, on alterne régulièrement étalons et produits à étudier de manière à vérifier la sensibilité de l'effecteur. L'étude des produits nouveaux d'action agoniste suit le protocole signalé pour le furthrétonium.

N.B.- Lorsque les indices d'affinité des étalons s'écartent trop

../..

nettement de la valeur moyenne ($\pm$ 0,3 unités) le jéjunum est rejeté.

Protocole d'étude d'un antagoniste

On introduit dans la cuve 0,1 cm3 de solution d'antagoniste La concentration dans la cuve est alors 100 fois plus faible. Après 3 minutes on ajoute le furthrétonium selon la technique habituelle. Généralement un antagoniste est étudié à plusieurs concentrations (de 1 à 1000 fois la plus petite dose active).

../..

II - TRACE DES COURBES DOSE-REPONSE A PARTIR DU GRAPHIQUE EXPERIMENTAL

A partir de la position d'équilibre, on mesure en mm la position des paliers successifs correspondant aux différentes concentrations. Le pourcentage de contraction correspondant à chaque palier est déterminé par rapport à la contraction maximum de l'étalon précédent.

On porte $-\log [A]$ (abscisse) en fonction de $100 \frac{EA}{EM}$. Sur un même graphique on fait figurer un étalon et le produit qui suit dans la série. Les divers graphiques sont utilisés pour le typage des produits et la détermination des indices.

Détermination des indices.-

I/- Activité intrinsèque

$$\alpha E = \frac{E_{A\ max}}{Em}$$

αE = activité intrinsèque d'un produit A

$E_{A\ max}$ = effet maximum possible avec A

E_{max} = effet maximum possible de l'organe.

A/- Affinité

a)- Agonistes : pD_2

On lit sur le graphique dose-action la valeur $-\log [A]$ correspondant à un effet $E_A = \frac{E_{A\ max}}{2}$

b)- Antagonistes compétitifs : pA_2

Nous avons vu que :

$$pA_2 = -\log K_B = -\log [B] + \log (DR-I)$$

Dans cette formule: $[B]$ = concentration du produit antagoniste essayé

../...

DR = Rapport des concentrations donnant un même effet.

Ainsi $[B]$ est une donnée expérimentale alors que $(DR - I)$ est facilement évalué à partir des courbes expérimentales, dont le décalage correspond à la valeur DR exprimée en unités logarithmiques.

Pour ces raisons, il est commode de préparer un tableau de correspondance permettant l'évaluation rapide de la valeur log (DR - I) en fonction du décalage des courbes exprimé en mm.

c) Antagonistes non compétitifs : pD'_2

Lorsque $\beta' = I$ et $p = 0$, nous avons vu que le modèle de l'antagonisme non compétitif métactoïde est :

$$\frac{E_{AB'}}{E\ max} = \frac{I}{I + \frac{[B']}{K'_B}} \cdot \frac{\alpha}{I + \frac{K_A}{[A]}}$$

les approximations sur pD'_2 sont du même ordre que celles que l'on peut faire sur pD_2.

si bien que $pD'_2 = -\log K'_B$ apparent

$$\text{Ainsi } pD'_2 = -\log[B'] \quad -\log\left(\frac{E_A}{E_A - E_{AB'}} - I\right)$$

$$\text{soit } pD'_2 = -\log[B'] + \log\left(\frac{E_A}{E_{AB'}} - I\right)$$

Dans ces conditions, $[B']$ est une donnée expérimentale alors que $\log\left(\frac{E_A}{E_{AB'}} - I\right)$ est évalué à partir du graphique expérimental.

Le taux d'affaissement des courbes permet facilement le calcul de

$$\frac{E_A - E_{AB'}}{E_{AB'}}$$

../..

Sur le graphique, lorsque l'on se place dans la région des effets maximum

$$\frac{E_{A\ max} - E_{AB'\ max}}{E_{AB'\ max}} = \frac{I - E_{AB'\ max}}{E_{AB'\ max}}$$

Là encore on prépare un tableau de correspondance entre $E_{AB'\ max}$ (exprimé en mm du graphique) et $\log\left(\frac{E_A}{E_{AB'}} - I\right)$

d) <u>divers</u>

α / <u>Agonistes partiels</u> : on définit une affinité agoniste et une affinité antagoniste.

β / <u>Antagonistes compétitifs - métactoïde</u> : on détermine à la fois pA_2 et pD'_2 .

La détermination du pD'_2 dans la région des effets maximum ne présente aucun problème particulier puisque l'affaissement maximum n'est pas influencé par l'affinité spécifique. De la même façon la détermination du pA_2 n'est absolument pas gênée dans la zone ou aucun affaissement ne se produit.

III - ORGANISATION DES ESSAIS ET EXPLOITATION STATISTIQUE

Nous avons suivi le protocole initial de Van ROSSUM et Van den BRINK (I) (II) (I2) dans lequel on s'efforce de supprimer la variabilité entre animaux en standardisant au mieux les essais et en contrôlant chaque série expérimentale par des étalons non seulement agonistes mais encore antagonistes. Ainsi les jéjunums pour lesquels les résultats d'affinités (pD_2 ou pA_2) des étalons étaient anormaux ont été systématiquement rejetés.

De plus, nous avons cherché à réaliser les divers essais de chaque produit sur des animaux différents.

Dans ces conditions, nous avons considéré les résultats comme homogènes et étudié la variabilité à partir de l'ensemble des populations de résultats sans discrimination.

Lorsque le nombre d'essais était inférieur à 5, nous n'avons donné aucune expression critique des résultats. Lorsque le nombre d'essais était au contraire supérieur à 5, nous avons évalué l'écart type de la moyenne Sm

$$Sm = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n\,(n-I)}}$$

$d = x_1 - \bar{x}$ = écart à la moyenne

n = nombre de déterminations

Nous sommes conscients que la méthode adoptée est sujette à caution. En effet, Van den BRINK (9) a pu montrer récemment que la standardisation ne permet pas de supprimer la variabilité entre animaux (encore que le contrôle de standardisation auquel Van den BRINK se réfère ne fasse pas appel à la détermination du pA_2 d'un étalon).

Par conséquent, il serait en toute rigueur nécessaire de ne faire intervenir qu'une valeur moyenne par animal. Selon Van den BRINK (9) cela conduit à utiliser au moins 5 animaux et 2 déterminations par animal.

../..

IV - ETUDE DES PRODUITS ETALONS

1)-Furthrétonium et Atropine (figure 7, 8, 9).

Nous avons étudié en alternance des courbes dose-réponse du furthrétonium seul et du furthrétonium antagonisant l'atropine.

Les résultats cités par ARIENS (1) et Van ROSSUM (11) (12) (13) étaient les suivants :

Furthrétonium $pD_2 = 5,8$

Atropine $pA_2 = 8,9$

Nous avons obtenu des valeurs un peu différentes pour le furthrétonium :

Furthrétonium $pD_2 = 5,6I$, 23/5 [x] , Sm = 0,04

Atropine $pA_2 = 8,93$, 5/I , Sm = 0,I8

2)- Autres antagonistes de référence

Nous avons été conduits à abandonner l'atropine pour des raisons à la fois théoriques et pratiques.

a)- Inconvénients pratiques : Les résultats sont influencés par le temps de contact. Le jéjunum est particulièrement difficile à laver lorsqu'on emploie de fortes concentrations d'atropine.

b)- Inconvénients théoriques : RANG (15) a démontré que l'atropine n'est nullement spécifique du récepteur muscarinique. A l'équilibre, il faut $1,1 \cdot I0^{-9}$ M pour bloquer 50% des récepteurs muscariniques. Un autre composé, qui n'est pas le récepteur, est bloqué à 50% pour une concentration de $4,5 \cdot I0^{-7}$ M. Sur le plan cinétique, la fixation par le récepteur muscarinique est bien plus rapide que la fixation parasite.

[x] - nombre d'essais/ nombre d'animaux.

../..

	SA_n ; n = pA =		4 6	4 5,5	3 5	3 4,5	2 4	2 3,5	1 3	1 2,5
xp.N°	Antagoniste	EMax								
10	0	154	39 25	92 60	154 100	154 100				
11	Atropine 10^{-8}		0 0	10 6	52 33	96 60	154 96	160 100		
12	0	170	39 23	99 58	141 83	170 100				
13	Atropine 10^{-8}		0 0	11 7	53 33	104 65	160 100			
14	0	167	37 22	85 51	142 85	167 100				
15	Atropine 10^{-7}						19 11	93 52	158 88	179 100

figure 7-Résultats d'une série de courbes dose-action (Furthrétonium Atropine).

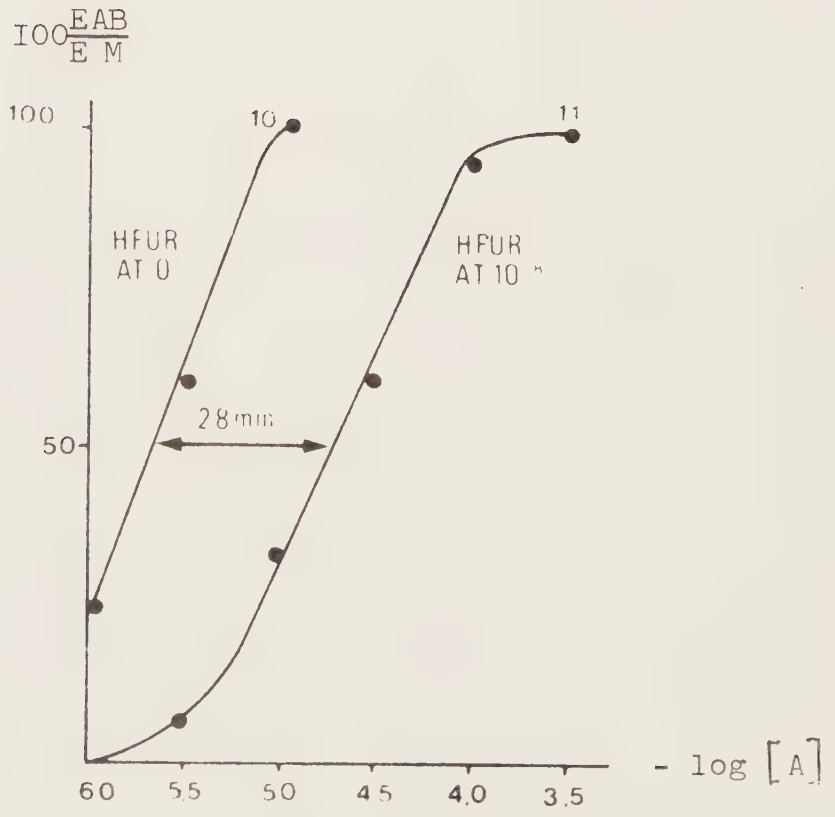


Figure 8

figure 8 : Antagonisme du funthrétonium par l'atropine(10^{-8}M)

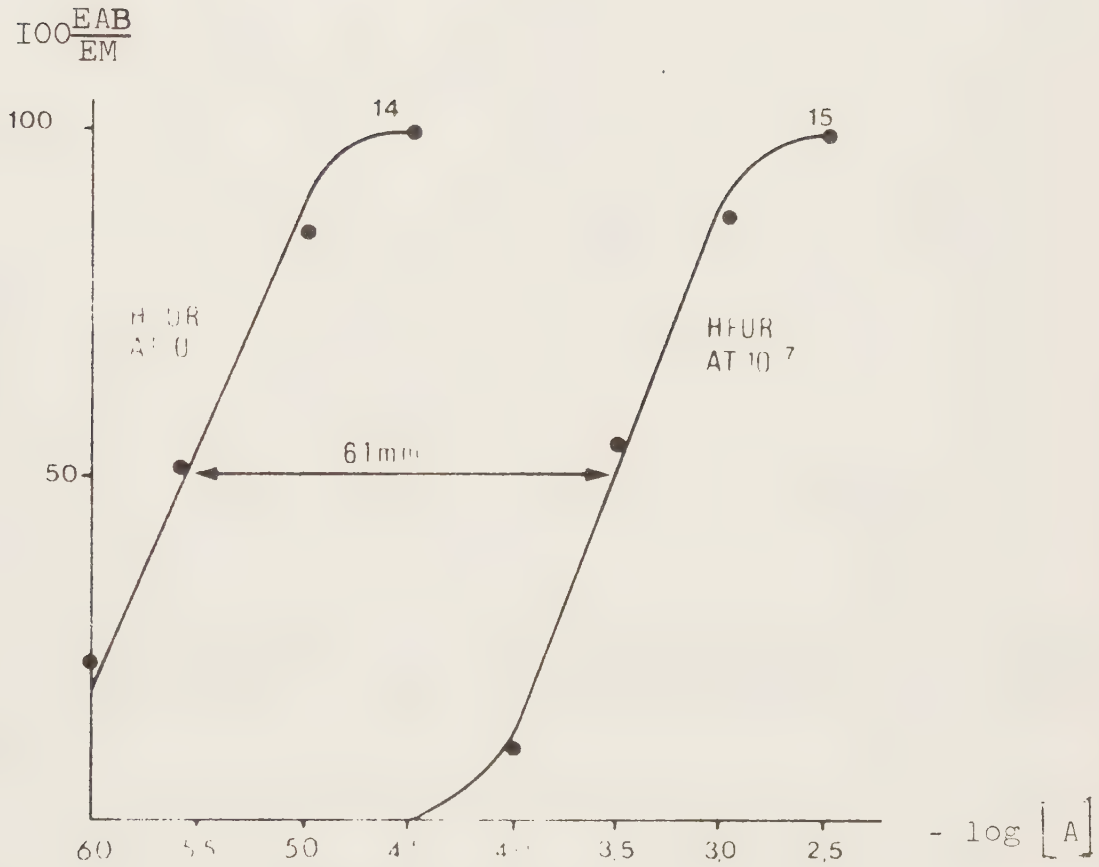
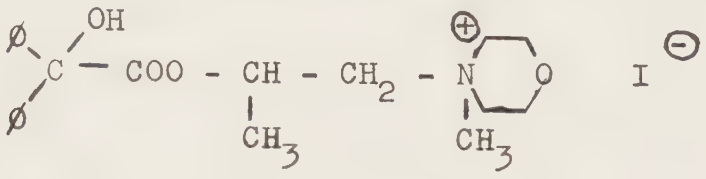


figure 9 :Antagonisme du furthrétonium par l'atropine(10^{-7}M)

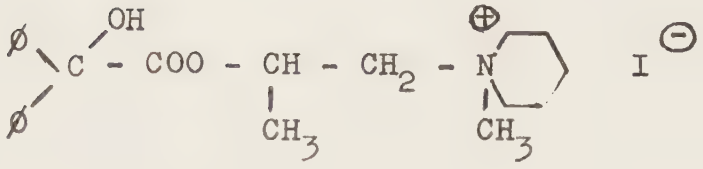
Pour les raisons précédentes, nous avons préféré l'emploi de certains antagonistes compétitifs préparés dans cette thèse et notamment de l'un des trois composés suivants :

•



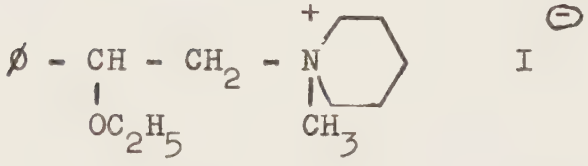
$pA_2 = 6,7I$ $\frac{7}{5}$ $sm = 0,08$

•



$pA_2 = 6,87$ $\frac{14}{5}$ $sm = 0,04$

•



$pA_2 = 6,17$ $\frac{13}{5}$ $sm = 0,04$

Dans un cas comme dans l'autre, le temps de contact ne semble pas influencer la valeur du pA_2 et surtout le lavage est particulièrement rapide.

CHAPITRE II

RESULTATS EXPERIMENTAUX

A - TYPES DE PRODUITS ETUDIES

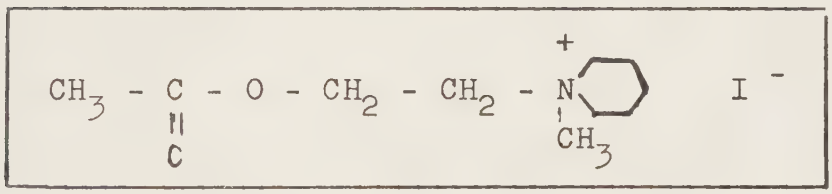
Nous avons rencontré, parmi les produits essayés, les trois types d'agents muscariniques : agonistes, agonistes partiels et antagonistes.

Toutefois, les agonistes et les agonistes partiels ont été très rares.

Parmi les antagonistes, ce sont les antagonistes compétitifs qui ont été les plus nombreux ; mais on trouve également des antagonistes métactoïdes ou encore des agents dualistes compétitifs - métactoïdes.

Nous nous bornerons ici à donner les courbes expérimentales d'un dérivé seulement de chaque type. Pour le reste, nous nous limiterons au relevé des indices.

I°/- Agonistes (figure IO)



- $\alpha^{E} = I$
- pD_2 = 3,7 ; 3,9 ; 3,8 ; 3,8 ; 3,5 ; 3,5 ; 3,5

  valeur moyenne : 3,67
- Nombre d'essais = $\frac{7}{3}$
- Sm = 0,07
- pA_2 Atropine =

  concentration atropine IO^{-8} M : 8,I ; 8,2

  IO^{-7} M : 8,I ; 8,0

  valeur moyenne : 8,I

../..

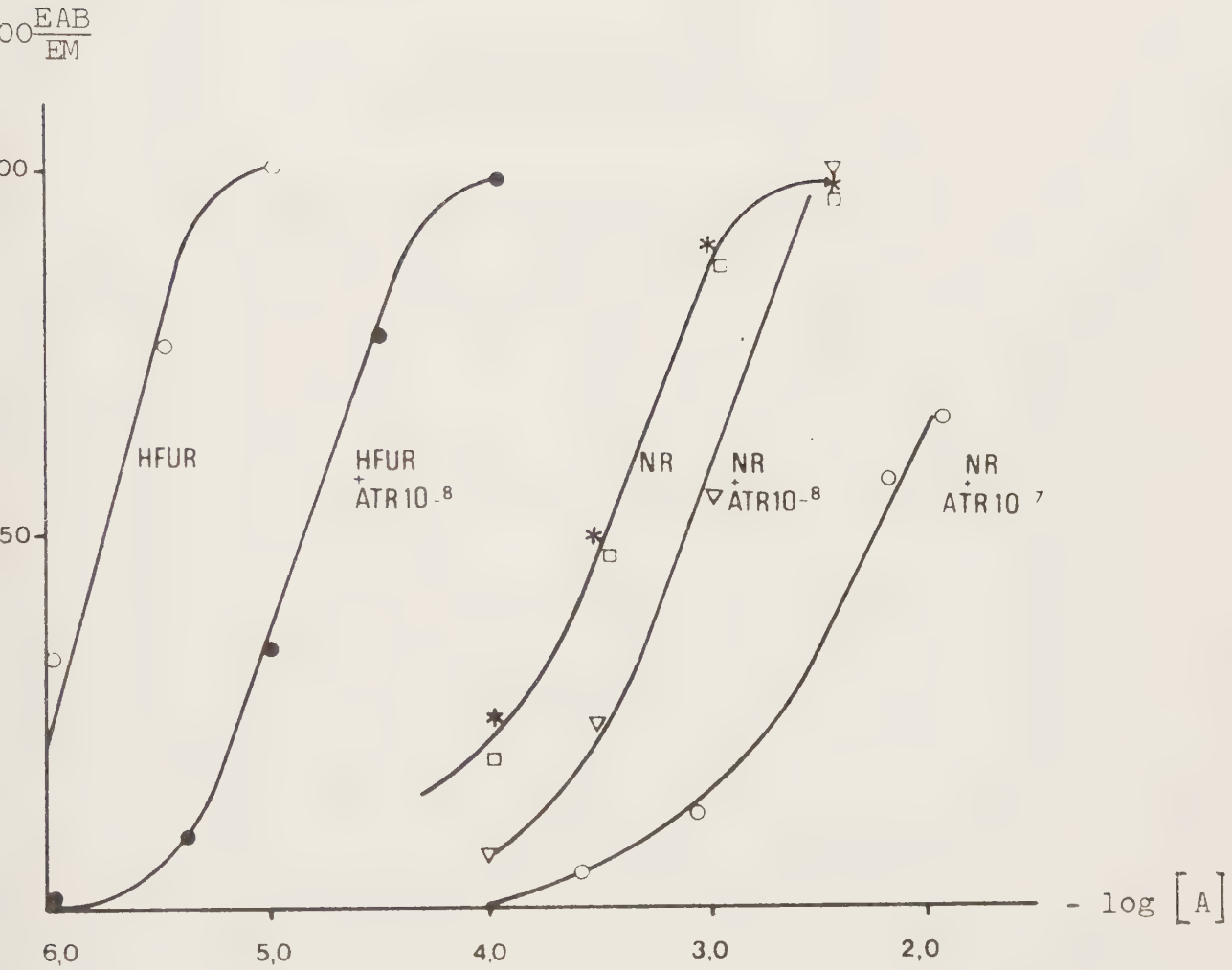


Figure 10

Produit agoniste

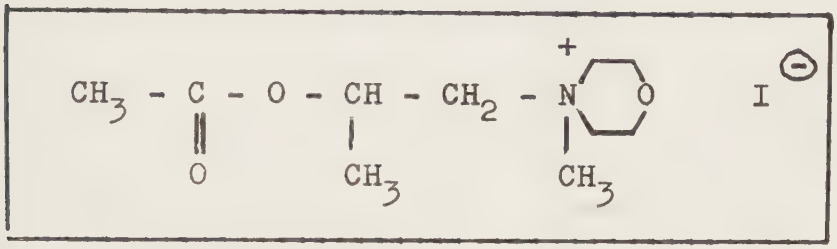
Remarque : L'allure des courbes est favorable à un antagonisme par compétition ; par contre la valeur du pA_2 rend cet antagonisme contestable.

En effet, dans des conditions analogues, avec les mêmes organes, l'antagonisme du furthrétonium a donné les résultats suivants :

$$pA_2 = 8,8 \; ; \; 8,5$$

(valeur moyenne = 8,65)

2°/- Agonistes partiels (figure 11)

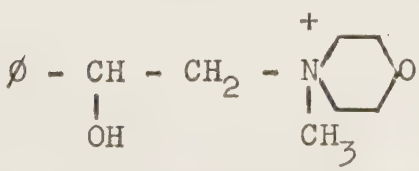


- α^E = 0,55 ; 0,55 ; 0,82 ; 0,76 ; 0,60.
  (valeur moyenne = α^E = 0,66)

- pD_2 = 2,3 ; 2,4 ; 2,4
  (valeur moyenne = 2,36)

- pA_2 = la forte valeur de α rend cet indice difficile à apprécier. Toutefois, l'ordre de grandeur semble situé entre 2 et 3. Nous admettrons que cet indice est, comme c'est fréquemment le cas pour les agonistes partiels, égal au pD_2 .

- pA_2 de l'antagoniste de référence



pA_2 = 4,6 2/1

alors que la valeur moyenne à l'égard du furthrétonium est 4,68 5/1
S_m = 0,04

../..

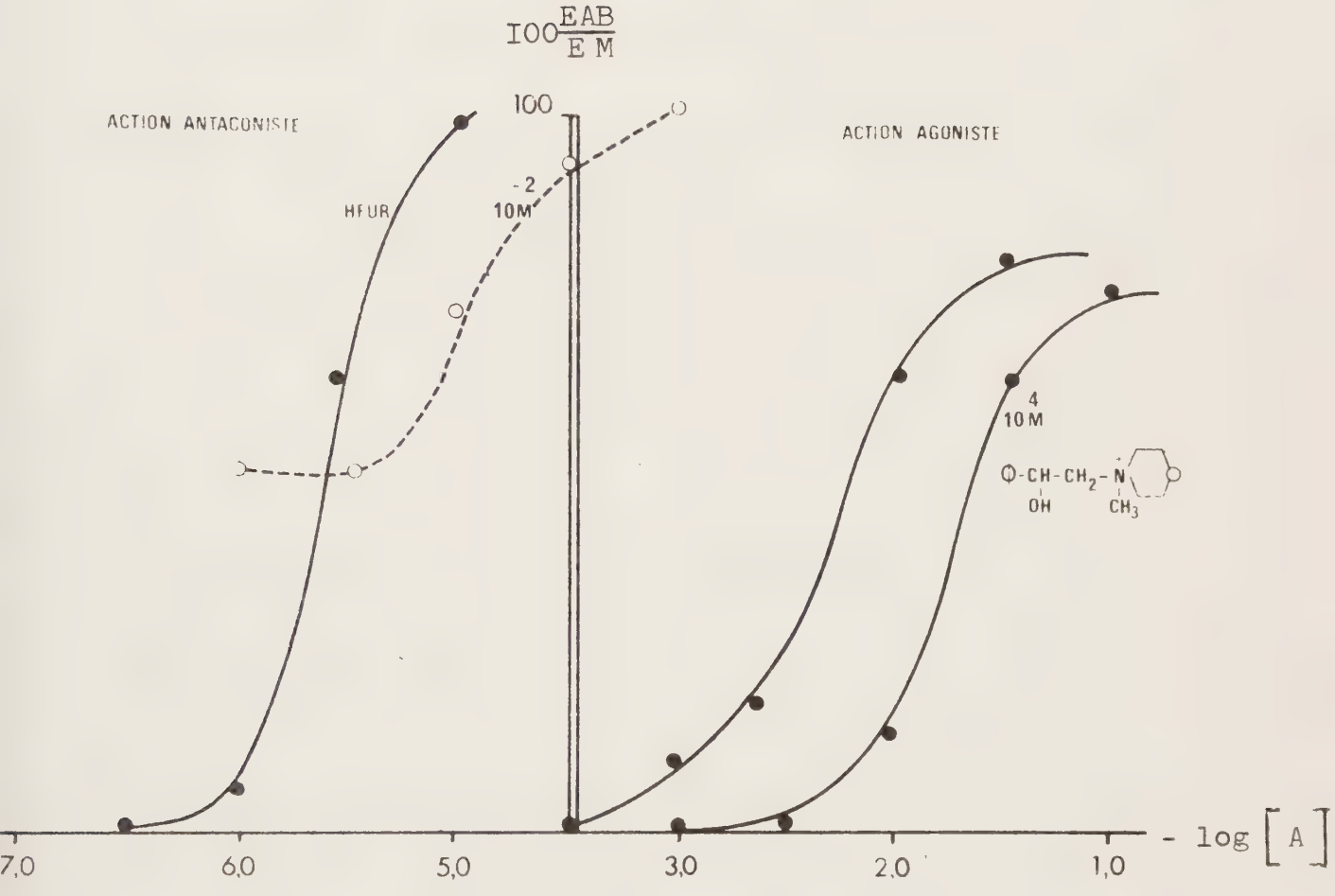
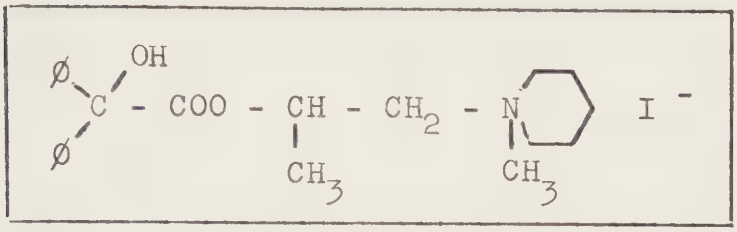


Figure11

Agoniste partiel

3°/- Antagonistes par compétition (figure I2)



pA_2 = 6,70 ; 6,9 ; 6,8 ; 6,9 ; 6,6 ; 6,6 ; 6,9 ; 7,04 ; 6,94 ; 7,I4 ; 6,97 ; 6,80 ; 6,90 ; 7,0 .

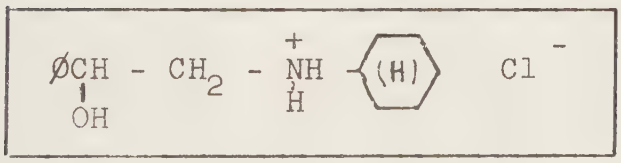
Valeur moyenne = 6,87

Nombre d'essais = $\frac{I4}{5}$

Sm = 0,04

$pD'_2 < 4$

4°/- Antagonistes métactoïdes (figure I3)



pD'_2 = 4,35 ; 4,90 ; 4,20 ; 4,60 ; 4,95 ; 4,75

Valeur moyenne = 4,62 S_m = 0,I3

Nombre d'essais = $\frac{6}{3}$

../..

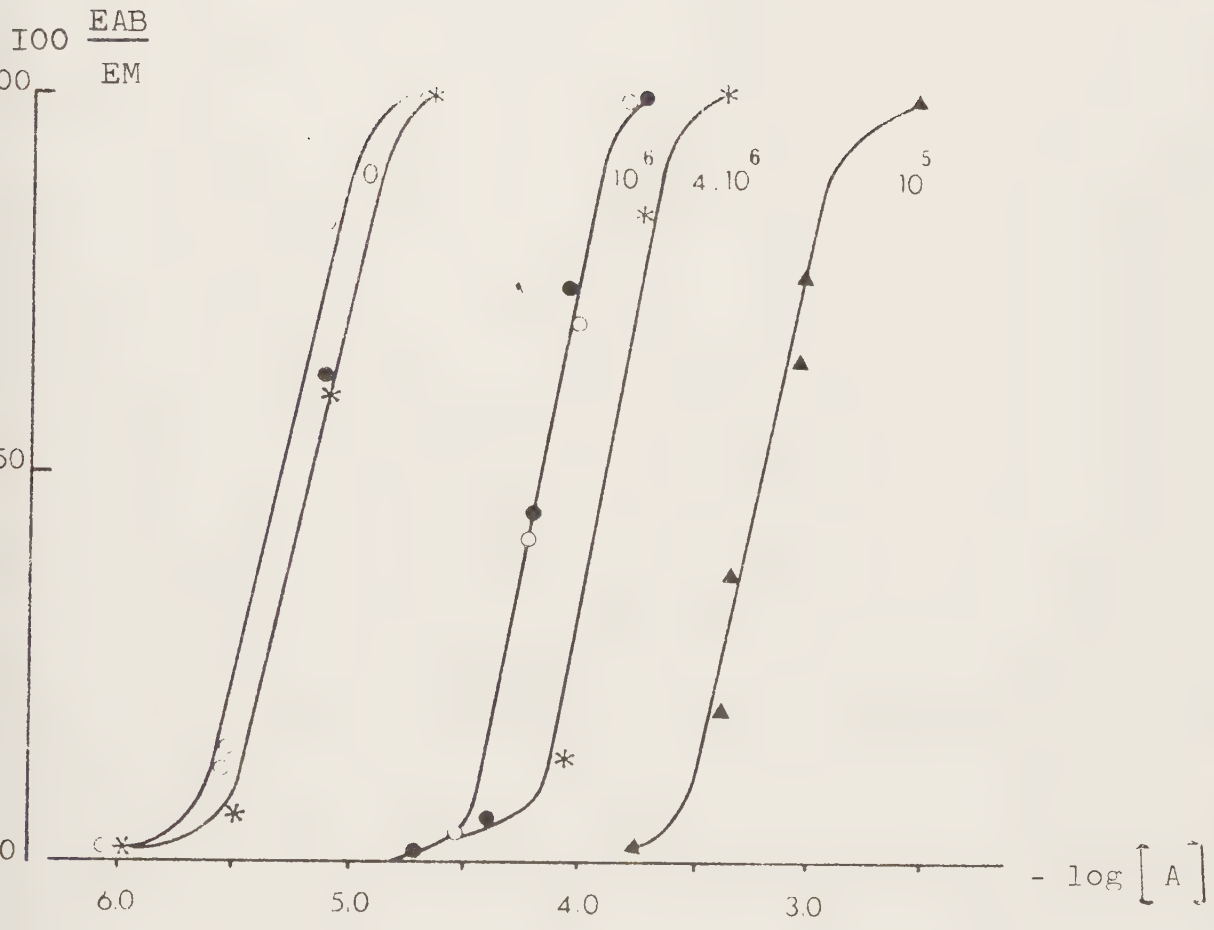


Figure 12

Antagoniste par compétition

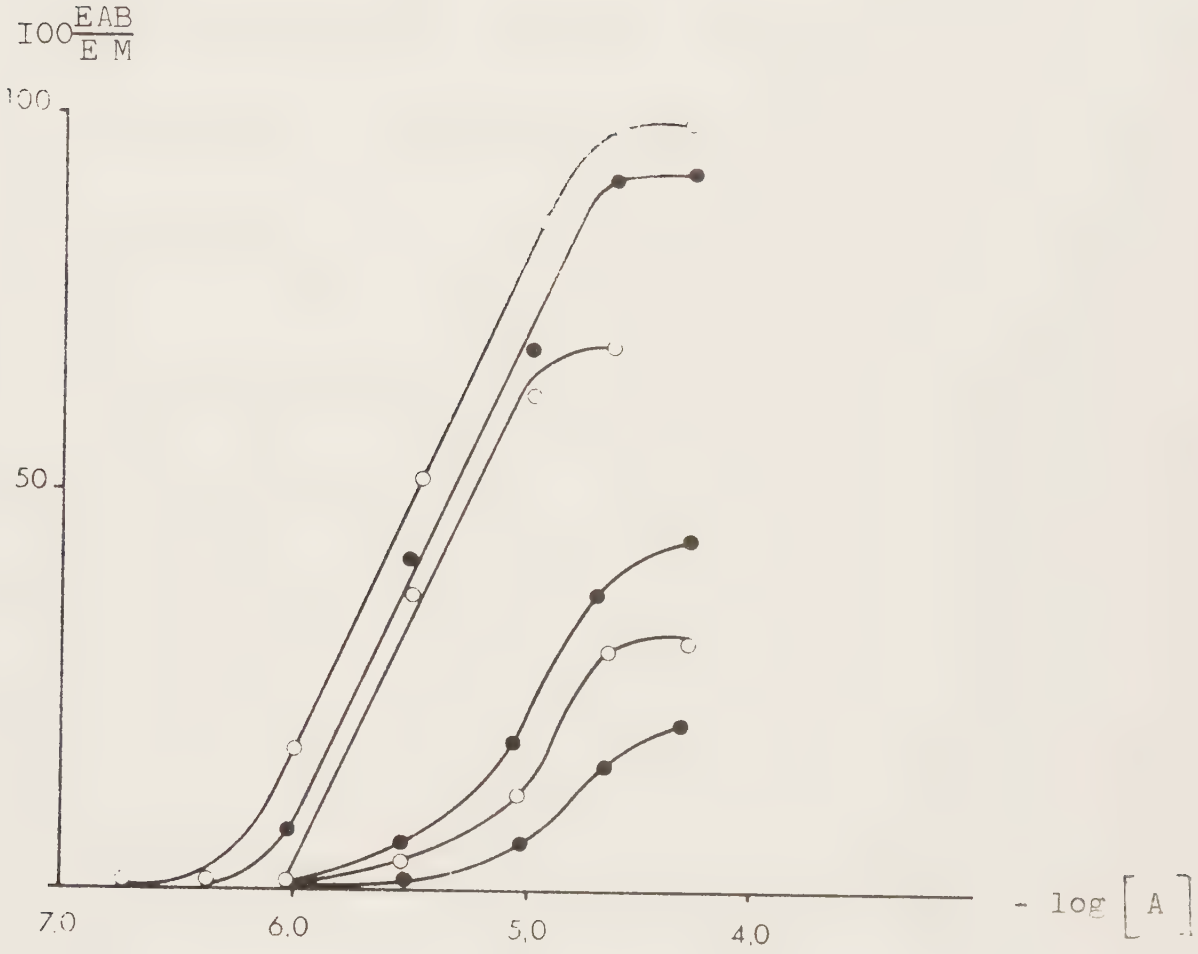
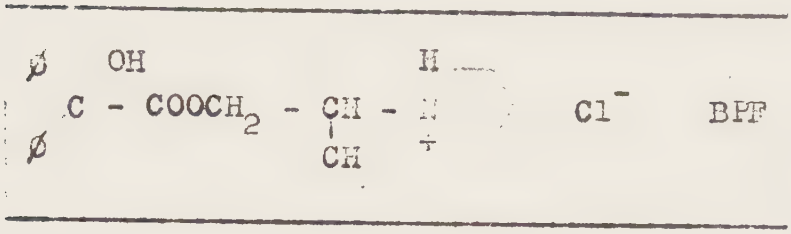


Figure 13

Antagoniste métactoïde

5°/- Antagonistes compétitifs-métactoïques (figure I4)



BPF

pA_2 = 6,80 ; 6,60 ; 6,95 ; 6,95 ; 6,90

Nombre d'essais = $\frac{5}{2}$

Valeur moyenne = 6,88

S_m = 0,04

pD'_2 = 4,5 ; 4,7 ; 4,5 ; 4,5 ; 4,6

Nombre d'essais = $\frac{5}{2}$

Valeur moyenne = 4,56

S_m = 0,04

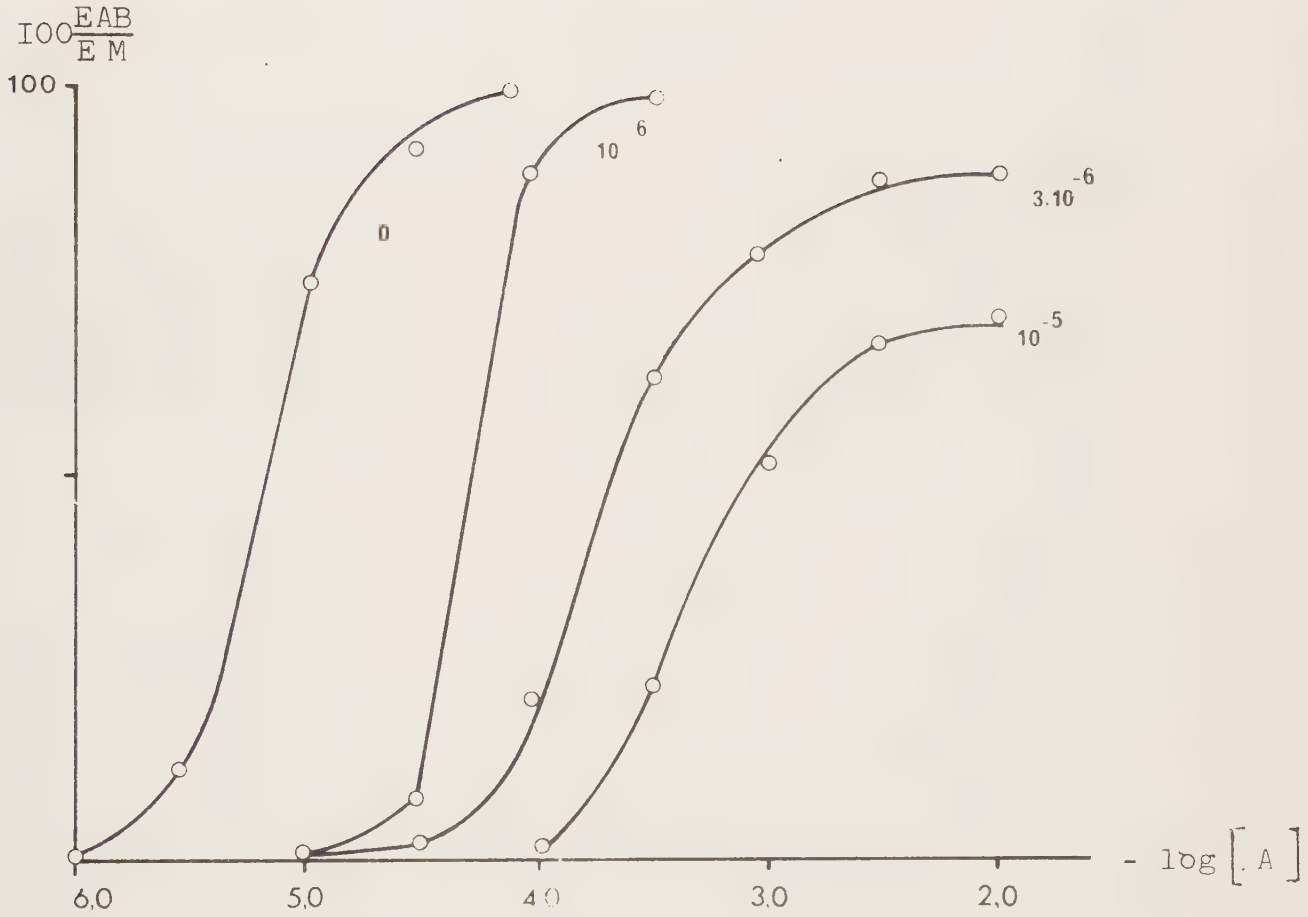


Figure 14

Dualisme dans l'antagonisme

B - VALEURS DES INDICES

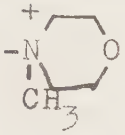
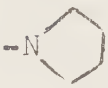
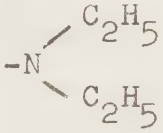
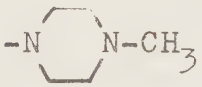
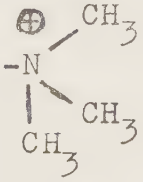
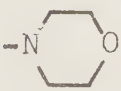
Nous classerons les résultats par séries en nous efforçant de regrouper les molécules qui ne diffèrent que par un point de substitution. Ce classement toutefois demeure grossier et c'est lors de la discussion que nous reviendrons plus longuement sur les rapprochements qu'il convient de faire parmi les molécules étudiées.

I° série $\phi - \underset{\underset{OCH_3}{|}}{CH} - CH_2 - NR_2$

N°	NR_2	Sel	α^E	pA_2	essais animaux	S	pD'_2	essais animaux	α^E
1	- NH - (H)	HCl	0	5,89	7/2	0,09	<3		
2	$-NH-(CH_2)_3-O-C_4H_9$	HCl	0	5,28	2/1		3,87	1/2	
3	$-NH-(CH_2)_3-O-{}_iC_3H_7$	HCl	0	5,18	4/2		4,10	2/1	
4	$-NH-(CH_2)_3-O-C_2H_5$	HCl	0	5,09	3/1		4,30	3/2	
5	- N⟨ ⟩	Cit	0	5,03	6/2	0,08	<3		
6	- N⟨ CH_3 / CH_3	Cit	0	4,71	3/1		3,55	3/1	
7	- N⟨ CH_3 / CH_2-CH_2OH	HCl	0	4,29	1/1		3,89	1/1	
8	- $NH-CH_2-CH=CH_2$	HCl	0				3,08	2/1	
9	- $NH-C_8H_{17}$ ¥	HCl	0				4,35	4/2	
10	- $NH-C_{i}{}_{4}H_{11}$	HCl	0				4,21	5/3	0,10
11	$NH-CH_2-C_6H_5$	HCl	Affaissement incomplet qui apparaît dès 10^{-6}M et ne dépasse pas 10% à 10^{-4}M.						

¥ Nous avons constaté dans le cas de ce dérivé une certaine irrégularité des résultats semblant liée au temps de contact.

2° série $\phi - CH(OCH_2-CH_2-CH(CH_3)-CH_3)-CH_2-NR_2$

N°	NR_2	Sel	α^E	pA_2	essais / animaux	S m	pD'_2	essais / animaux	S_m
12		I^-	0	6,74	$\frac{6}{2}$	0,06	<3		
13		HCl	0	6,52	$\frac{5}{3}$	0,09	<4		
14		HCl	0	6,2	$\frac{1}{1}$		3,7	$\frac{1}{1}$	
15		Cit $1H_2O$	0	6,0	$\frac{3}{1}$		<4		
16		2HCl	0				4,6	$\frac{2}{2}$	
17		I^-	0	$<6,0$	$\frac{1}{1}$				
18		HCl	0	$<6,0$	$\frac{1}{1}$		4,1	$\frac{1}{1}$	

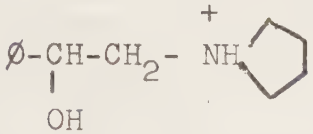
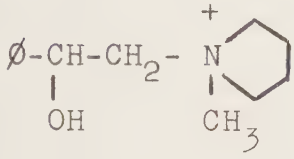
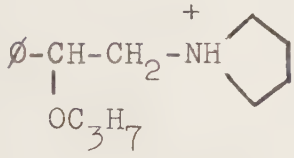
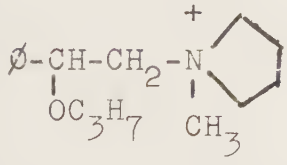
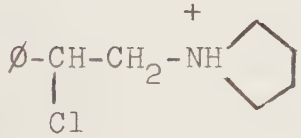
3° série $\phi - CH(OR') - CH_2 - N$ (cycle)

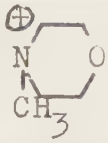
N°	R'	sel	α^E	pA_2	essais animaux	S_m	pD'_2	essais animaux	S_m
I9	H	HCl	0	3,86	5/2	0,10	2,7	4/2	
(5)	CH_3	Cit	0	5,03	6/2	0,08	<3		
20	C_3H_7	HCl	0	¥ 6,59	10/4	0,05			
				6,51	7/2	0,04	4,0	4/2	
21	iC_3H_7	HCl	0	5,86	5/2	0,10	3,9	2/1	
22	C_4H_9	HCl	0	6,59	7/4	0,06	<3		
23	iC_4H_9	HCl	0	6,26	8/3	0,07	4,2	4/2	
(13)	iC_5H_{11}	HCl	0	6,52	5/3	0,09	<4		
24	$CH_2CH_2C_6H_5$	Cit	0	6,30	8/3	0,05	¥¥		

¥ - Produit CERM.

¥¥ - Il se produit un affaissement incomplet apparent à la concentration 10^{-6}M, celui-ci s'accentue à 10^{-5}M et demeure constant à 10^{-4}M (78%). La molécule en cause est donc un antagoniste compétitif - métactoïde incomplet.

Dérivés apparentés à la 3ème série

N°	Formules	α^E	pA_2	essais / animaux	S_m	pD'_2	essais / animaux	S_m
(I9		0	3,86	5/2	0,I0	2,7	4/2	
25		0	4,95	2/I		<3		
(20)		0	6,55	I7/0	0,06	4,0	4/2	
26		0	6,66	5/2	0,03	<4		
27		0	4,55	2/I	Action de type irreversible			

4° série R -  I⊖

N°	R	α E	pA_2	essais / animaux	S_m	pD'_2	essais / animaux	S_m
28	Ø-CH(OH)-CH_2 -	0	4,68	5/1	0,04	<3		
29	Ø-CH(OC_2H_5)-CH_2 -	0	5,99	4/2		<4		
30	Ø-CH($O_iC_3H_7$)-CH_2 -	0	6,27	5/1	0,07	<2,5		
(12)	Ø-CH($O_iC_5H_{11}$)-CH_2-	0	6,74	6/2	0,06	<3		
31	Ø-CH(O-CH_2-CH_2-Ø)-CH_2 -	0	6,21	5/2	0,09	<3		
32	Ø-CH(Ø)-CH_2-O-CH_2-CH_2-	0	6,05	10/2	0,03	<3		
33	Ø-CH(Ø)-C(=O)-O-CH_2-CH_2 -	0	6,17	3/1		<4		
34	Ø-CH(Ø)-C(=O)-O-CH(CH_3)-CH_2-	0	5,45	10/3	0,04	<3		
35	Ø,Ø-C(OH)-C(=O)-O-CH_2-CH_2	0	6,76	9/3	0,09	<4		

4° série (suite)								
N°	R	α^E	pA_2	essais/animaux	S_m	pD'_2	essais/animaux	S_m
36	$\phi_2C(OH)$-C(=O)-O-CH(CH_3)-CH_2 -	0	6,71	$\frac{7}{5}$	0,08	< 3		
37	CH_3-COO-CH(CH_3)-CH_2-	0,66	2,4 X	$\frac{3}{1}$				
38	CH_3-CH(OH)-CH_2 -	0....	< 2,5					
39	HO-CH_2-CH_2 -	0	< 2,5 XX					
40	ϕ-C(=C)-CH_2-CH_2-	0				3,1	$\frac{4}{2}$	

X Nous avons mesuré pD_2 (2,36). La détermination de pA_2 présentant certaines difficultés liées à la valeur élevé de α , nous avons pris pour référence la valeur de pD_2.

XX L'effet antagoniste a été étudié entre 5.10^{-3}M ($\frac{2}{1}$) et 5.10^{-2}M ($\frac{8}{2}$). Un décalage de 0,5 unité logarithmique, constaté pour la concentration la plus faible n'a pas été accru en augmentant cette concentration. Dans ces conditions, on peut supposer qu'il s'agit d'un antagonisme métaffinoïde. Pour les concentrations plus élevées, on constate en outre un léger affaissement des courbes caractéristique d'un antagonisme métactoïde.

5° série R - NH⊕ ⬡ Cl⊖

N°	R	α^E	pA_2	essais animaux	S_m	pD'_2	essais animaux	S_m
41	Ø-CH(OH)-CH_2-	0				2,6	2/1	
42	Ø-CH(OC_2H_5)-CH_2-	0	4,74	7/2	0,06	3,7	3/2	
43	Ø-CH($O_iC_3H_7$)-CH_2-	0	4,79	6/2	0,05	4,2	3/2	
(18)	Ø-CH($O_iC_5H_{11}$)-CH_2-	0	$<$6,0			4,1	1/1	
44	Ø-CH(O-CH(CH$_3$)-Ø)-CH_2 -	0	$<$6,0			4,4	1/1	
45	(Ø)(Ø)CH-COO-CH_2-CH_2-	0	$<$6,0			4,35	2/1	
46	(Ø)(Ø)CH-COO-CH(CH$_3$)-CH_2-	0	$<$5,0			4,15	5/2	0,04
47	(Ø)(Ø)C(OH)-COO-CH_2-CH_2-	0	5,66	5/1	0,04	$<$4		
48	(Ø)(Ø)C(OH)-COO-CH(CH$_3$)-CH_2 -	0	5,02	8/4	0,07	$<$4		
49	(Ø)(Ø)C(OH)-COO-CH_2-CH(CH$_3$) -	0	5,92	6/3	0,10	$<$4,5		
50	Ø-CH(Cl)-CH_2-	0	4,55	2/1	Action de type irréversible			

6° série R - $N^{+}(CH_3)_3$ $I^{\ominus}$

N°	R	α^E	pA_2	essais / animaux	S_m	pD'_2	essais / animaux	S_m
51	ϕ-CH(OH)-CH_2-	0	4,29	4/2		<3		
52	ϕ-CH(O-C_2H_5)-CH_2-	0	5,07	4/2		<4		
(17)	ϕ-CH($O_i C_5H_{11}$)-CH_2 -	0	< 6,0	1/1				
53	ϕ-CH(O-C(=O)-CH_3)-CH_2-	0	4,06	5/2	0,06	<3		
54	ϕ-CH(O-C(=O)-CH_2-ϕ)-CH_2-	0	4,77	7/2	0,10	<3		
55	ϕ_2C(OH)-COO-CH(ϕ)-CH_2	0	5,16	5/4	0,11	<3		

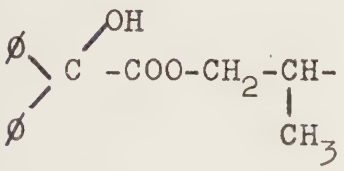
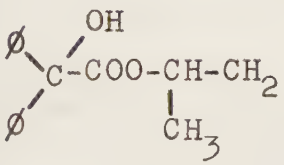
7° série $R\text{-}NH^{\oplus}(CH_3)_2\ X^-$

N°	R	sel	α^E	pA_2	essais animaux	S_m	pD'_2	essais animaux	S_m
56	Ø-CH(OH)-CH_2-	HCl	0				3,0	1/1	
(6)	Ø-CH($O-CH_3$)-CH_2-	Cit	0	4,71	3/1		3,5	3/1	
57	Ø-CH($OCO-CH_2-Ø$)-CH_2-	HCl	0				5,0	3/1	
58	Ø(Ø)(OH)C - COOCH(Ø)-CH_2-	HCl	0				4,93	6/2	0,07
59	Ø-CH(Cl)-CH_2-	HCl	0	4,05	2/1				

8° série

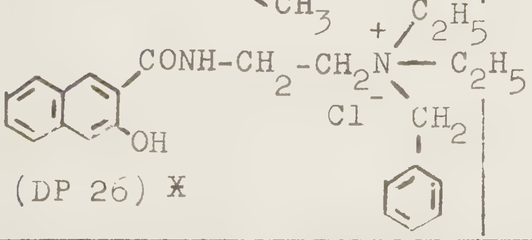
N°	R	α^E	pD_2	pA_2	essais / animaux	S_m	pD'_2	essais / animaux	S_m
60	$CH_3-COO-CH_2CH_2-$	1	3,67		7/3	0,07			
61	$HO-CH(CH_3)-CH_2-$	0		2,85	2/1				
62	$CH_3-CH_2-O-CH_2-CH_2$	0		4,50	3/2		<3		
63	$Ø-CH(OH)-CH_2-$	0		5,01	7/2	0,03	<3		
64	$Ø-CH(OC_2H_5)-CH_2-$	0		6,17	13/5	0,04	<4		
65	$Ø_2C(OH)-COO-CH(CH_3)-CH_2-$	0		6,87	14/5	0,04	<4		

9° série $R\text{-}\overset{+}{N}H$⟨⬡⟩ X^-

N°	R	sel	E α	pA_2	essais / animaux	S_m	pD'_2	essais / animaux	S_m
66	$CH_3\text{-}CH_2\text{-}O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}$	oxalate	0,2 X	3,5	3/1				
67	$CH_3\text{-}\underset{\underset{O}{\|}}{C}\text{-}O\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}$	oxalate	0				2,0	2/1	
68	$\text{Ø-}\underset{\underset{OH}{\|}}{CH}\text{-}CH_2\text{-}$	HCl	0	⩽4,0					
69	$\text{Ø-}\underset{\underset{O\text{-}C_2H_5}{\|}}{CH}\text{-}CH_2\text{-}$	HCl	0	5,58	6/3	0,04	3,9	1/1	
(14)	$\text{Ø-}\underset{\underset{O_iC_5H_{11}}{\|}}{CH}\text{-}CH_2\text{-}$	HCl	0	6,2	1/1		3,7	1/1	
70		HCl	0	6,88	5/2	0,04	4,56	5/2	0,04
7I		HCl	0	5,58	6/2	0,07	4,07	5/2	0,07
72	$Cl\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}$	HCl	0	3,5	3/2				
73	$Cl\text{-}\underset{\underset{\text{Ø}}{\|}}{CH}\text{-}CH_2\text{-}$	HCl	0	4,5	1/1	Action de type irréversible			

X $pD_2 = 3,7$

N°	R	α^E	pA_2	essais animaux	S_m	pD'_2	essais animaux	S_m
IO° série $R-NH_2^{+}-(H)\ Cl^{-}$								
74	$CH_3-CH(OH)-CH_2-$		$< 3,0$			$< 2,5$		
75	$Ø-CH(OH)-CH_2-$	0				4,62	$\frac{6}{3}$	0,13
(1)	$Ø-CH(O-CH_3)-CH_2-$	0	5,89	$\frac{7}{2}$	0,09	< 3		
76	$Ø_2C(OH)-COO-CH(CH_3)-CH_2-$	0				5,38	$\frac{2}{1}$	
77	$Ø_2C(OH)-COO-CH_2-CH(CH_3)-$	0				5,16	$\frac{7}{4}$	0,10
78	$Ø-CH(Cl)-CH_2-$	0	4,05	$\frac{2}{1}$				

N°	Formule	α^E	pA_2	essais animaux	S_m	pD'_2	essais animaux	S_m
D i v e r s								
79	$Ø-CH(O-CH_2-CH(CH_3)_2)-CH_2-N\langle\ \rangle NH$	0	5,9	$\frac{2}{2}$		4,4	$\frac{2}{2}$	
80	 (DP 26) X	0	6,4	$\frac{2}{1}$		4,6	$\frac{3}{2}$	

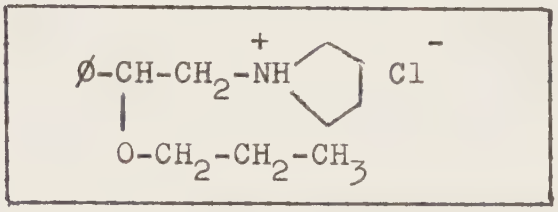
X Cette molécule nous a été obligeamment fournie par le Service Technique de la Société DROIT ET PHARMACIE.

C - REMARQUES

I - Contrôle pharmacologique des produits CERM.-

Deux molécules préparées dans la première partie de cette thèse avaient été préalablement essayées dans la série du CERM.

Dans la mesure où les produits CERM se singularisent par des points de fusion quelquefois anormaux, il était intéressant de comparer les actions pharmacologiques des dérivés des deux sources :

1°/- 

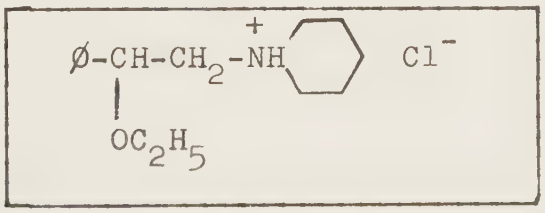
a)- Produit CERM

$pA_2 = 6,59$ $\frac{10}{4}$ $S_m = 0,05$

b)- Produit thèse

$pA_2 = 6,51$ $\frac{7}{2}$ $S_m = 0,04$

Les différences constatées dans les valeurs de pA_2 semblent peu significatives.

2°/- 

a)- Produit CERM

$pA_2 = 5,55$ $\frac{1}{1}$

b)- Produit thèse

$pA_2 = 5,58$ $\frac{5}{2}$ $S_m = 0,04$

../..

Là encore, les différences de pA_2 ne semblent pas significatives. Par contre, ainsi qu'il apparaît dans la figure I5, le produit CERM montre une activité intrinsèque sans doute due à une impureté. Le pD_2 (correspondant à l'effet stimulant) est fort différent du pA_2 du produit principal ($pD_2 \simeq$ IO). Il est à noter qu'un tel effet stimulant est vraisemblablement non spécifique car il ne lui correspond aucun effet antagoniste de même affinité à l'égard du furthrétonium.

Par ailleurs, le 466 CERM est le seul produit de la série pour lequel nous ayons constaté un effet semblable, très probablement lié à la présence exceptionnelle d'une impureté.

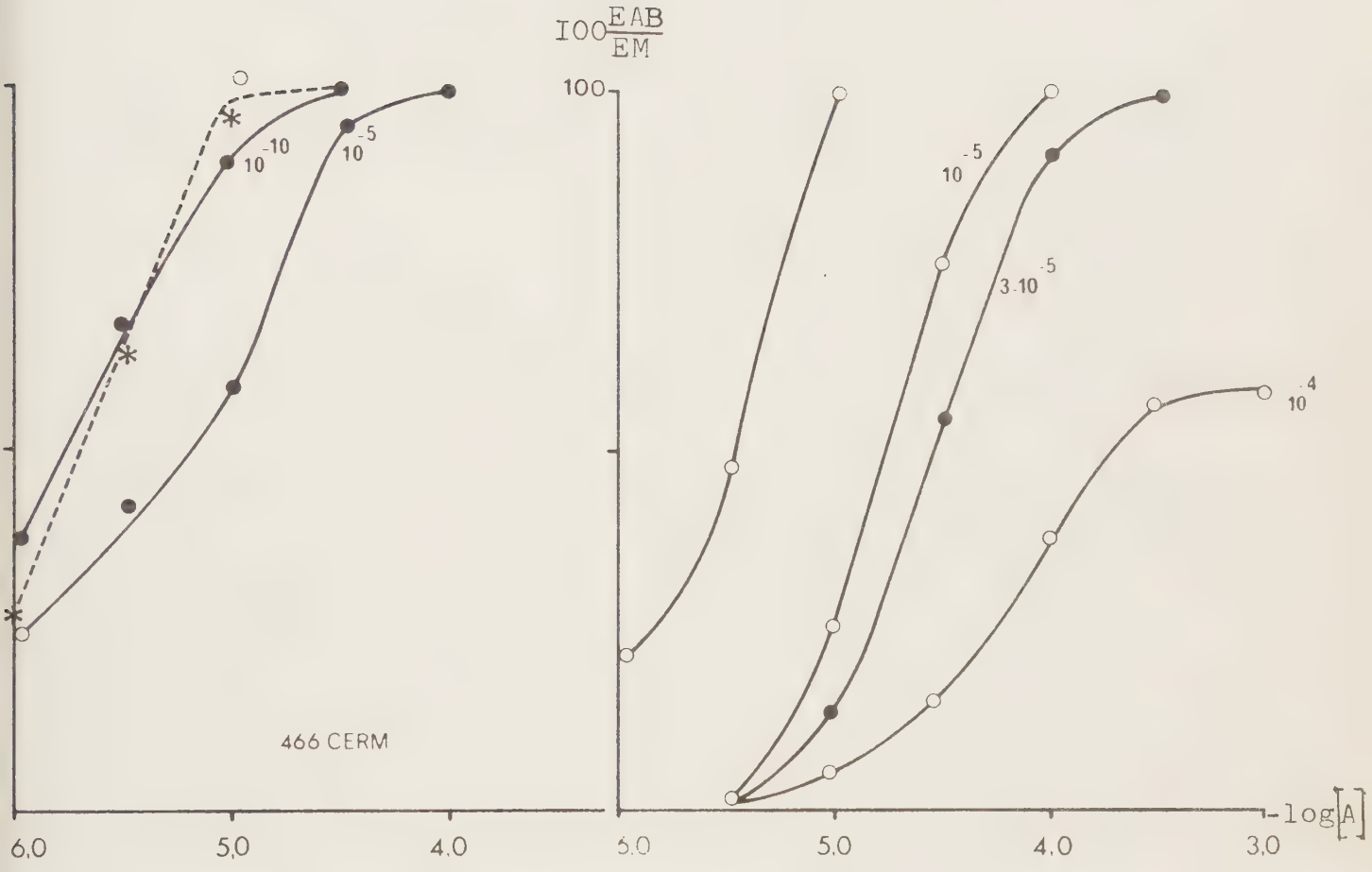


Figure 15

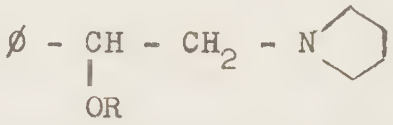
Comparaison de l'Action antagoniste du 466 CERM avec celle de Ø-CH(OC$_2$H$_5$)-CH$_2$-$\overset{+}{N}$H⟨⬡⟩ Cl^-

II - Activités in vivo.-

Bien que la recherche de telles activités ne soit pas notre but, nous pouvons faire état, à titre indicatif, de deux séries de résultats.

I°/- Activité antiparkinsonienne

L'existence de pA_2 anticholinergiques muscariniques relativement élevés dans des séries d'amines III nous avait fait penser que les dérivés de formule générale :



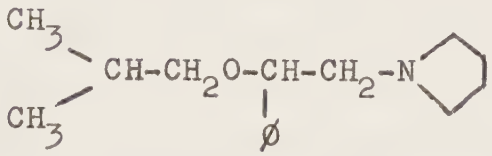
pouvaient présenter une action antitrémorine, voire antiparkinsonienne intéressante.

Les essais ont été faits et publiés par le Professeur DUCHENE-MARULLAZ (16) pour le dérivé dans lequel R = i C_4H_9.

Le tableau suivant rend compte des résultats obtenus chez l'animal.

../..

ex. P. DUCHÊNE - MARULLAZ et Coll. - (16)

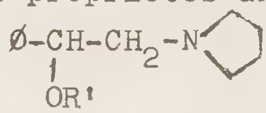
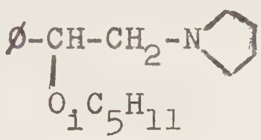


= I067 CERM

PRODUITS	Antagonisme Oxotrémorine ED 50 mg/kg (tremblement)	Antagonisme Sinistrotorsion Ésérinique ED 50 mg/kg
I067 CERM	13	I.25
ATROPINE	8	
TRIXEXYPHENIDYLE	25	10
ORPHENADRINE	40	5
PROFENANINE	50	4

Il apparaît clairement que les tests pharmacologiques sont très favorables à une activité antiparkinsonienne puisque le 1067 CERM semble nettement supérieur aux antiparkinsoniens classiques.

On pouvait dès lors envisager les essais cliniques avec quelque espoir. Pourtant, dans ce domaine, le 1067 CERM s'est avéré inactif. La raison de cet échec nous échappe encore. Peut-être faut-il, ainsi que le souligne le Pr DUCHÊNE-MARULLAZ (16), remettre en question les tests pharmacologiques traditionnels de recherche des antiparkinsoniens ou encore invoquer les raisons métaboliques (différences profondes entre l'homme et l'animal) ou même chimiques (variations des propriétés physiques de l'échantillon) de cet insuccès.

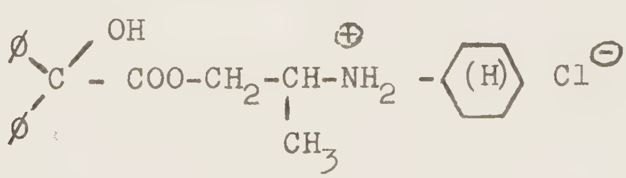
Un brevet du CERM (17) étend ces propriétés antiparkinsoniennes aux autres dérivés de la série  et notamment à  .

2°/- Recherche de propriétés spasmolytiques

Les essais d'action analgésique, anti-inflammatoire et anticholinergique ont été réalisés sur plusieurs dérivés par le Dr PEYROUX (Laboratoires LEURQUIN) et seront ultérieurement publiés.

D'une façon générale, les résultats se sont révélés assez modestes. On notera toutefois que :

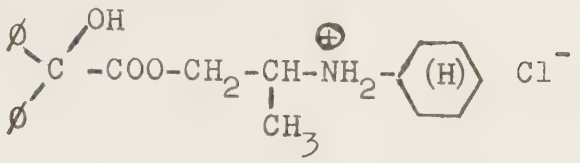
a) L'action antiinflammatoire de

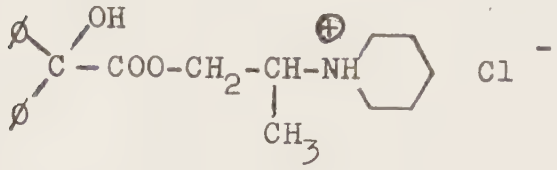


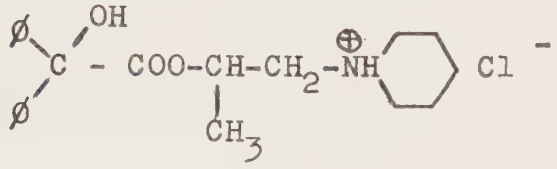
semble un peu supérieure à celle de la phénylbutazone.

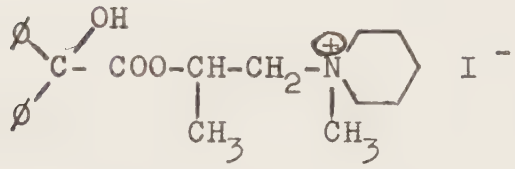
../..

b) Les dérivés suivants :









ont une action analgésique intéressante.

Toutefois, la toxicité relativement forte de ces produits (DL_{50} de l'ordre de 100 mg/kg) limite considérablement leur intérêt.

CHAPITRE III

CONCLUSIONS DE LA PARTIE PHARMACOLOGIQUE

L'essai in vitro, sur jéjunum de rat (selon la méthode de Van ROSSUM) de 80 molécules a permis de typer ces dernières, (qui sont presque toutes des agents muscariniques ou du moins spasmolytiques) en agonistes, agonistes partiels et antagonistes divers.

L'activité intrinsèque (α) et les indices d'affinité (pD_2, pA_2 et pD'_2) ont été déterminés. On a pu constater par le jeu de plusieurs types de modifications structurales :

I°/- le passage des agonistes aux antagonistes compétitifs par l'intermédiaire des agonistes partiels (rarement)

2°/- le passage des antagonistes compétitifs aux antagonistes non spécifiques par l'intermédiaire d'agents dualistes (fréquemment)

3°/- les variations d'affinités des antagonistes compétitifs.

Les résultats acquis, dans la mesure où ils sont le fait de méthodes standardisées, pourront être rapprochés de ceux obtenus par diverses écoles (ARIENS ou STEPHENSON, par exemple) en vue d'étudier des relations structure-activité.

Tous les antagonistes compétitifs ont été caractérisés par leur pA_2. Etant donné que ce paramètre traduit une valeur réellement moléculaire, il pourra être utilisé dans des corrélations structure-activité quantitatives non dépourvues de signification.

Notons, enfin, qu'au cours de ce travail a été sélectionné un dérivé antitrémorine très puissant. L'existence de cette activité était prévisible et c'est donc un succès des méthodes rationnelles. Par contre, rien ne permettait de prévoir son intensité dont il faut convenir qu'elle est le résultat d'un hasard heureux.

CHAPITRE IV

BIBLIOGRAPHIE

1 E.J. ARIENS (I966) in " Advances in Drug Research ", III, p.235 (Harper et Simmonds) Academic Press

2 E.J. ARIENS (I964) Molecular Pharmacology - Academic Press

3 A. REY (I97I) LABO-PHARMA Sept. p. 48

4 A. REY et J.BARBE (I967) Bull.Chim. Ther, 2, p. 469

5 A. REY et J. BARBE (I968) Bull. Chim. Ther, 3 , p. 71

6 E.J. ARIENS (I969) Papers from the symposium on " The physiological equivalence of drug dosage forms " OTTAWA , June I969,p.23.

7 J.M. VAN ROSSUM (I968) in " Physico-chemical aspects of drug action" ed E.J. ARIENS p.237 , Pergamon

8 J.M. VAN ROSSUM (I966) in " Advances in Drug Research ", 3 , p.189 (ed. Harper et Simmonds) Academic Press.

9 F.G. VAN DEN BRINK (I969) " Histamine and Antihistamines " - Thèse Nimègue.

10 W.D.M. PATON (I970) in " Molecular properties of drug receptors " p.3 (ed. Churchill).

11 J.M. VAN ROSSUM et F.G. VAN DEN BRINK (I963) Arch.Int.Pharmacodyn., 143 , p.240.

12 J.M. VAN ROSSUM (I963) Arch. Int. Pharmacodyn. 143 , p. 299

13 TYRODE (I9I0) Arch. int. Pharmacodyn. 20 , p.205

14 STAFF OF THE DEPARTMENT OF PHARMACOLOGY - UNIVERSITY OF EDINBUGH (I970) , p. 152 - E. & S. Livingstone (2° édition).

../..

I5 H.P. RANG (I967) Ann.N.Y. Acad. Sci. 144 ,2, p. 756.

16 P. DUCHENE-MARULLAZ, M. JALFRE et J.HACHE (I969) Thérapie, 24, p.683.

17 R.Y. MAUVERNAY et N. BUSCH . Ger.offen. 1,811,787 16 oct. I969 - Appl. 15 déc. I967. ex C.A.(I970),72,2I607e

III^{ème} PARTIE

RELATIONS STRUCTURE-ACTIVITE

CHAPITRE I

DIFFICULTES POSEES PAR LA PRATIQUE DE LA SYNTHESE DIRIGEE

Nous avons connu deux séries de contraintes : les unes d'ordre réellement technique étaient liées à la complexité des sujets de recherche pharmacochimique et les autres essentiellement humaines résultaient d'une sorte d'opposition psychologique entre chimistes et pharmacologues. C'est en croyant supprimer ces dernières que nous avons pris le parti de réaliser la majorité des expériences. S'il est vrai que ces questions relèvent plus de l'acquis personnel que de la connaissance scientifique, peut-être pouvons-nous toutefois témoigner de l'extrême lourdeur du processus que nous avons adopté. Contrairement à ce qu'on pourrait croire l'unité de conception et la liberté d'approche des problèmes qui parait si précieuse dans les travaux de structure-activité, n'est pas forcément sauvegardée dès lors que l'on se charge soi-même de la synthèse, des essais pharmacologiques et de l'interprétation des résultats. Sans doute, la thèse de groupe conviendrait-elle à ce type de recherches. Elle permettrait une tenue convenable dans chaque domaine et éviterait peut-être qu'un responsable unique ne soit obscurci par l'accumulation de détails et de soucis techniques trop divers.

CHAPITRE II

VARIATIONS PAR ZONES

(à partir de la molécule d'Acétylcholine)

A Modifications de la fonction amine

B Substitutions de la chaine centrale

C Variations du groupement acétyle

A - MODIFICATIONS DE LA FONCTION AMINE

La littérature abonde (cf Introduction) en résultats relatifs à ce type de variation structurale. Toutefois, rares sont les travaux réellement systématiques de portée fondamentale. Bien souvent les essais sont effectués par des techniques différentes et ne peuvent être comparés entre eux.

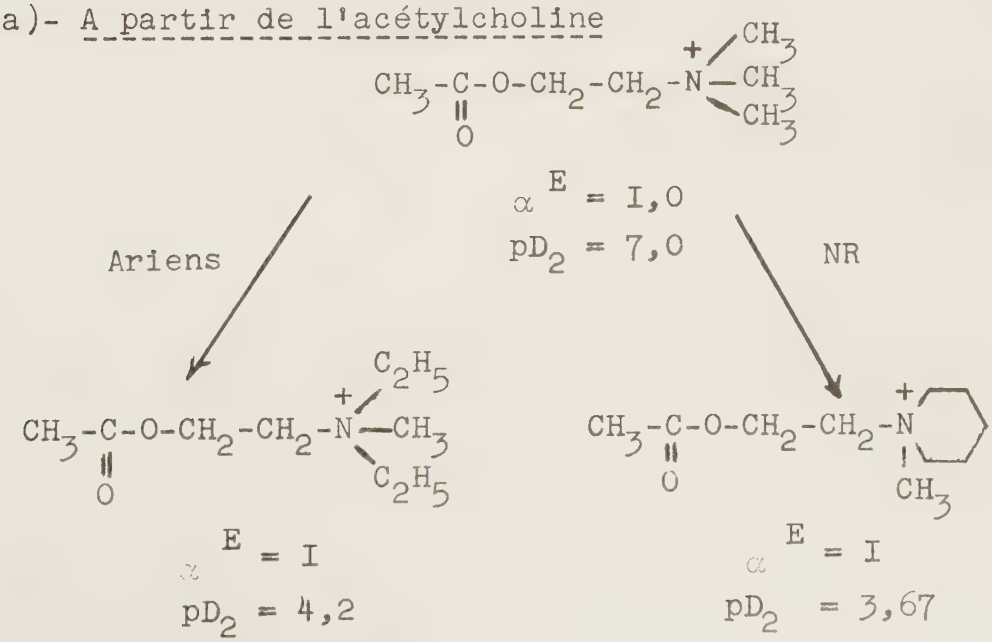
Les enseignements les plus précis ont été apportés par ARIENS, VAN ROSSUM et Coll. Ces auteurs ont pris l'habitude de limiter leurs recherches à 5 séries principales (Acétylcholine, Alkyltriméthylammonium, Alkoxyalkyltriméthylammonium, Dioxolane , Furthrétonium) dans lesquelles ils ont fait subir à la fonction amine des variations assez limitées (méthylation et éthylation progressives). Ces variations conduisent il est vrai des agonistes aux antagonistes compétitifs et de ces derniers aux antagonistes non spécifiques.

Ce sont des résultats comparables que nous avons recherchés par des substitutions plus diversifiées. Nous verrons par référence aux publications d'ARIENS et Coll. (I-6) que bon nombre des règles qu'ils ont énoncées se trouvent confirmées, encore que les hypothèses parfois suggérées ne soient pas sans limites.

I/- Passage des agonistes aux antagonistes

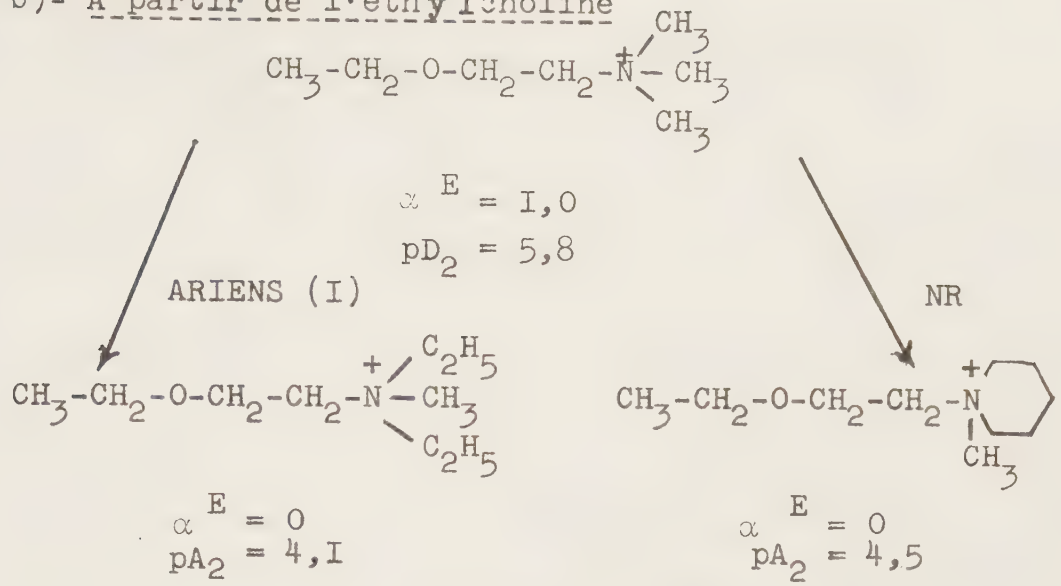
On peut mettre en parallèle les variations suivantes :

a)- A partir de l'acétylcholine



../..

b)- A partir de l'éthylcholine



Dans les deux exemples précédents, on remarque le rôle déterminant pour l'action agoniste du groupement triméthylammonium. De plus, l'influence perturbatrice des modifications est d'autant plus nette que le reste de la molécule est peu favorable à l'affinit Ainsi les homologues pipéridinium ou diéthylméthylammonium de l'acét choline sont-ils agonistes alors qu'au contraire ceux de l'éthylcho ne sont antagonistes.

c)- Divers

Nous citerons deux autres exemples montrant la disparition de l'action agoniste par modification du groupement triméthylammonium. Dans une première substitution le produit est agoniste partiel dans l'autre il est antagoniste ou inactif.

α E = I
pD2 = 6,3
[Ariens (3)]

α E = 0,66
pD2 = 2,36
[NR]

../..

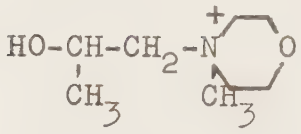
α E = I

pD_2 = 3,2

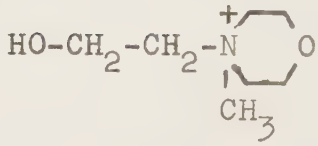
[Ariens (I)]

α E = 0

pA_2 = 2,85



$pA_2 < 2,5$



$pA_2 < 2,5$

Dans la mesure où le groupement morpholinium est encore plus défavorable à l'action agoniste que le substituant pipéridinium on peut considérer que les facteurs en jeu sont plus d'ordre stérique que d'ordre hydrophobe. (π morpholine $\ll$ π pipéridine)

2/- Influence de la quaternisation

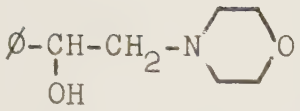
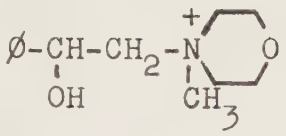
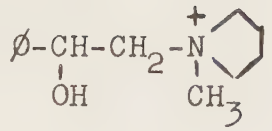
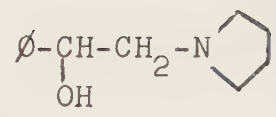
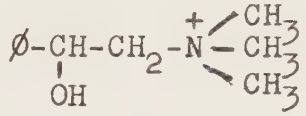
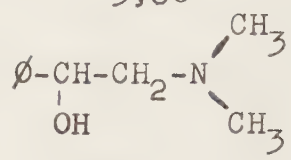
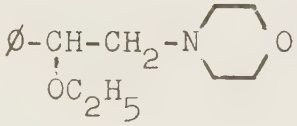
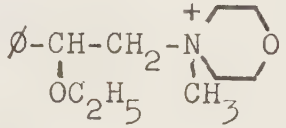
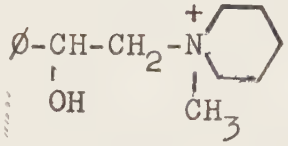
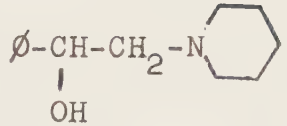
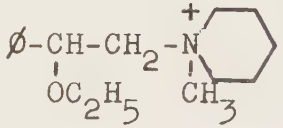
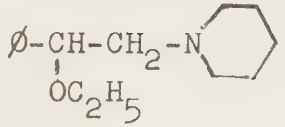
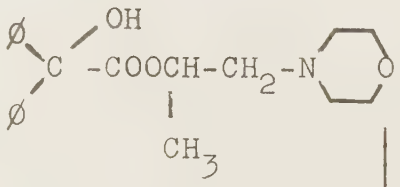
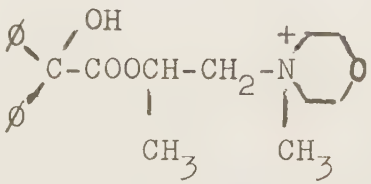
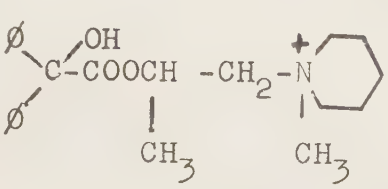
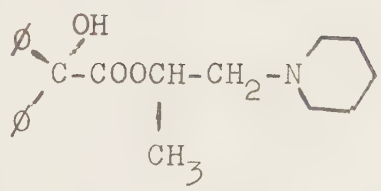
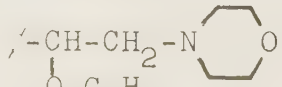
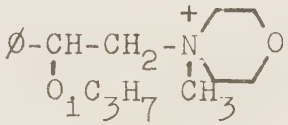
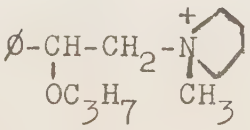
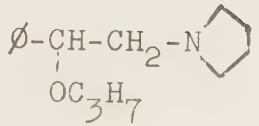
a)- En ce qui concerne les agonistes nous avons peu de résultats, toutefois l'exemple suivant confirme le rôle essentiel de la quaternisation dans l'action agoniste :

pD'_2 = 2,0 pD_2 = 3,67

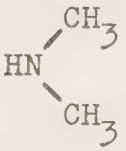
b)- L'effet de la quaternisation a été étudié plus en détail dans les séries antagonistes.

On peut remarquer (tableau I) l'influence très forte de la méthylation de la morpholine.

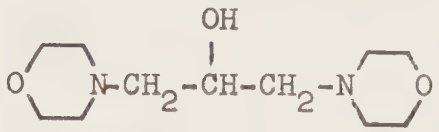
../..

		ΔpA_2	ΔpA_2		
			I,09		
<2,6	4,68	>2	>I,29	4,95	3,86
					
				4,29	<3,0
			>I		
				5,0I	<4,0
4,74	5,99	I,25	0,59		
				6,I7	5,58
					
5,02	6,7I	I,69	I,29	6,87	5,58
					
4,79	6,27	I,48	0,II	6,66	

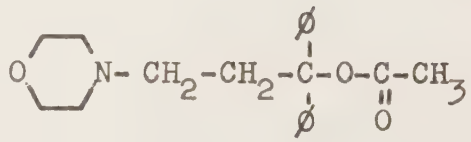
Il parait intéressant de rapprocher ces résultats du pK de l'amine de référence :

Amine				
pK (7)	II,06	II,27	I0,7	8,33

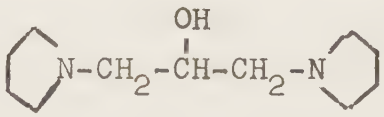
Notons en outre que pour les dérivés du type étudié, le pK est encore sensiblement plus bas (7) :



pK = 6,98



pK = 6,83



pK = 9,73

Ainsi, dans les conditions expérimentales (pH ≃ 7,0), les dérivés de la morpholine sont loin d'être entièrement ionisés alors qu'au contraire l'ionisation des autres amines est presque totale.

L'effet de l'iodométhylation de la morpholine est d'autant plus puissant que l'on passe d'une espèce partiellement ionisée à une autre espèce ionisée à I00%.

On doit remarquer toutefois que pour une même amine , les variations d'affinité sont encore différentes d'un couple de dérivés à l'autre et cela dans des proportions qui dépassent

../..

les erreurs expérimentales. Il est vraisemblable que des facteurs autres que le pK (facteurs stériques ou hydrophobes) interviennent également.

3/- Rôle des facteurs hydrophobes.-

On peut penser que le groupement méthyle introduit sur l'azote lors de la quaternisation contribue à l'hydrophobie globale de la molécule d'une façon plus ou moins favorable selon la série en cause. Bien que cela reste à confirmer, les plus forts écarts d'affinité semblent correspondre aux séries les moins hydrophobes et les plus faibles aux séries les plus hydrophobes.

Toutefois, c'est dans un autre type de variations que sont le mieux illustrés les effets de l'hydrophobie du groupement aminé sur l'affinité.

Le tableau II met en parallèle les valeurs de π^* et les indices d'affinité (pA_2 et pD'_2). Dans les dérivés étudiés, l'affinité spécifique et l'affinité non spécifique augmentent avec la valeur de $\Sigma\pi$ (figure I). L'optimum d'hydrophobie nécessaire pour l'affinité non spécifique semble être le plus élevé, si bien que l'introduction de substituants de plus en plus hydrophobes conduit des antagonistes compétitifs à des antagonistes métactoïdes en passant par l'intermédiaire d'antagonistes dualistes compétitifs métactoïdes (figure 2).
Deux molécules semblent caractérisées par une spécificité anormale : il s'agit du dérivé pyrrolidine et du dérivé cyclohexylamine (ce sont les seules qui comportent un cycle) .

* Nous rappellerons que π est le paramètre d'hydrophie introduit par HANSCH (I4)(8)(9).
Pour un substituant X $\quad \pi_X = \log P_X - \log P_H$

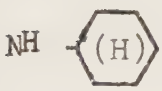
P_X : coefficient de partage octanol/eau d'un dérivé substitué par X
P_H : coefficient de partage octanol/eau d'un dérivé substitué par H

En présence de plusieurs substituants, les valeurs de π sont fréquemment additives ($\Sigma\pi$).

../..

TABLEAU II

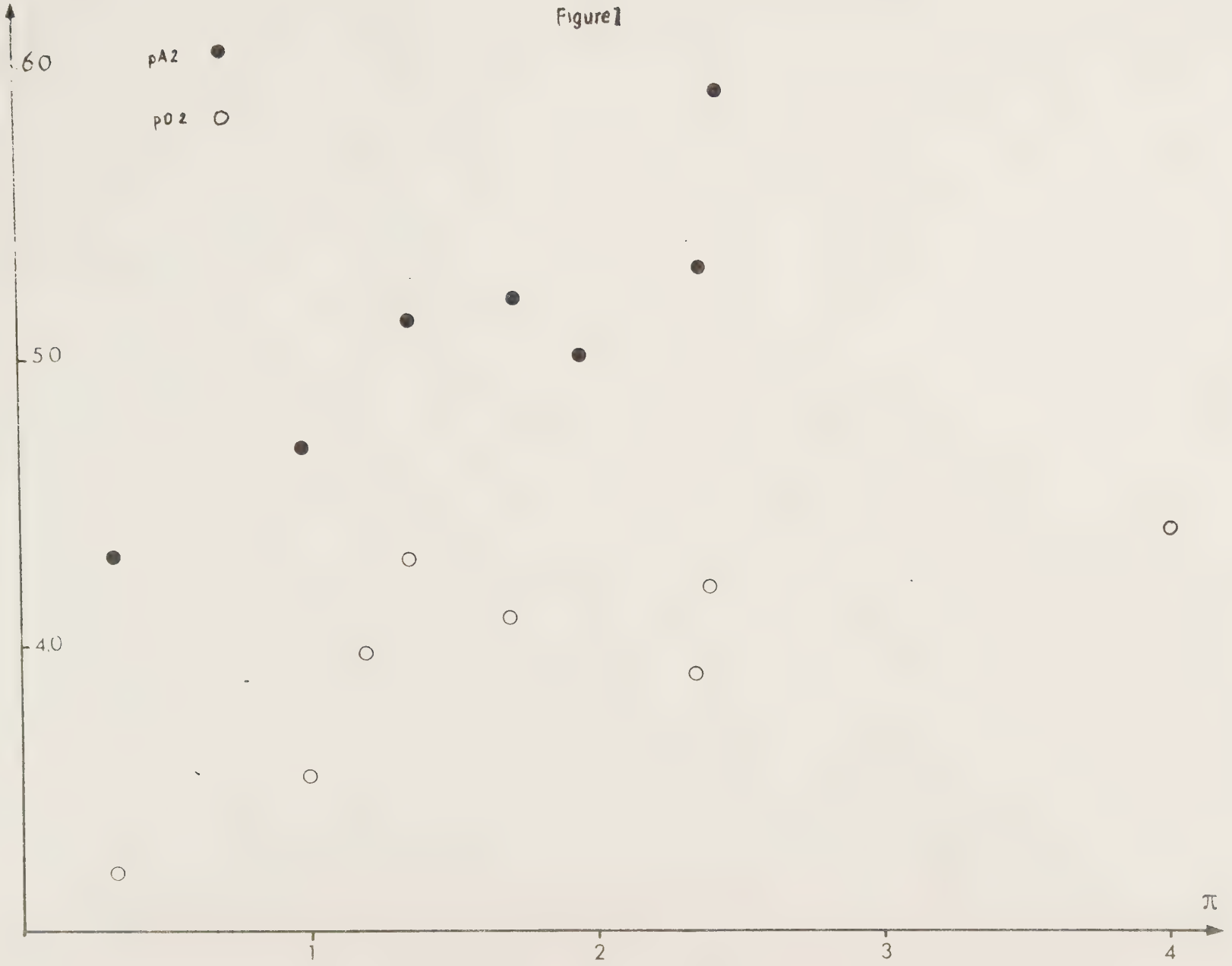
$$\phi - \underset{\underset{OCH_3}{|}}{CH} - CH_2 - NR_2$$

NR_2	pA_2	pD'_2	$\overset{\star}{\sum}\pi R_2$
$N\begin{matrix}CH_3\\CH_2-CH_2OH\end{matrix}$	4,29	3,23	0,34
$N\begin{matrix}CH_3\\CH_3\end{matrix}$	4,7I	3,55	I,00
$NH-CH_2-CH = CH_2$		3,98	I,I8
$NH-(CH_2)_3-O-C_2H_5$	5,09	4,30	I,34
$NH-(CH_2)_3-O-i\ C_3H_7$	5,I8	4,I0	I,7I
	5,03	$<3,0$	I,92
$NH-(CH_2)_3-O-C_4H_9$	5,28	3,87	2,34
$NH-_iC_5H_{II}$		4,2I	2,37
	5,90	<3	2,39
$NH-CH_2-\phi$			2,69
$NH-C_8H_{I7}$		4,35	4,00

$\star$ Valeurs calculées à partir de données fournies par CRAIG (8) et LIEN (9).

../..

Figure 1



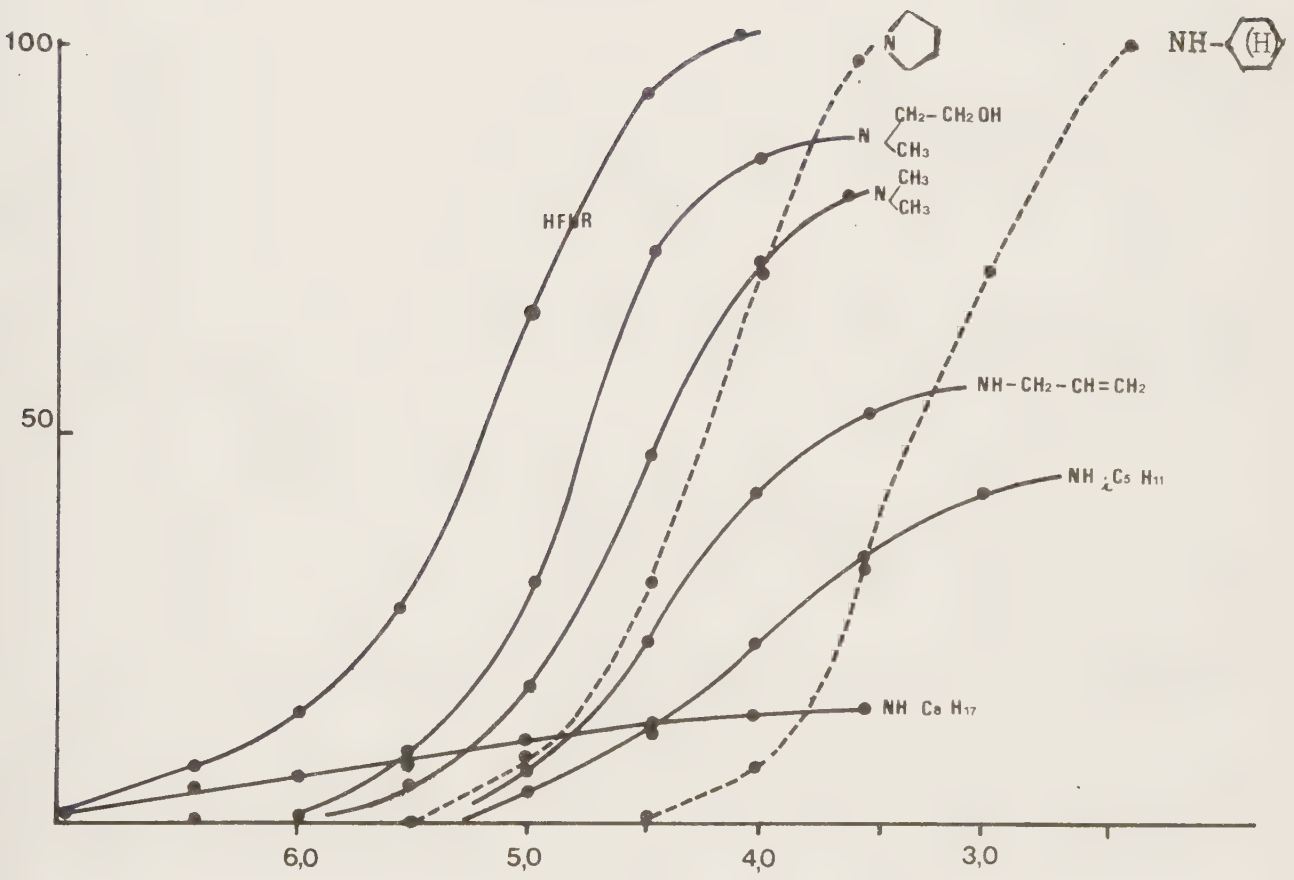


Figure 2

Variations des propriétés antagonistes des produits de la série :

$$\text{Ø-}\underset{\underset{\text{OCH}_3}{|}}{\text{CH}}\text{-CH}_2\text{-NR}_2$$

utilisés à la dose de 10^{-4} $M.l^{-1}$

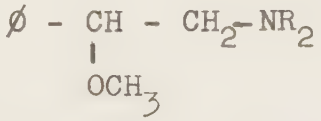
4/- Critique des observations précédentes

a)- Suivant la sensibilité particulière des séries vis-à-vis de certains facteurs, nous avons fait successivement l'hypothèse que des facteurs stériques, électroniques (pK) ou enfin hydrophobes, intervenaient, mais il est bien certain que c'est la totalité de ces facteurs qui intervient dans chaque cas.

b)- Si les facteurs stériques jouent un rôle dans l'affinité il est vraisemblable qu'ils influencent la position des molécules de la série sur le récepteur, si bien que les interactions avec l'ensemble des sites sont sans doute modifiées . Lorsqu'il existe une corrélation entre le paramètre hydrophobe d'un substituant et l'affinité d'une série pour un récepteur, on peut supposer que c'est l'hydrophobie globale de la molécule qui intervient. Dans ces conditions, il n'est pas rationnel de considérer isolément une seule zone de la molécule.

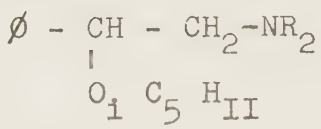
c)- On peut enfin montrer sur des exemples que la contribution des groupements aminés à l'affinité des antagonistes varie d'une série à l'autre.

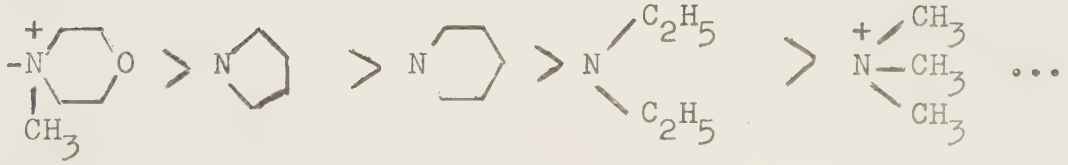
Dans les molécules du type :



on pourrait classer les substituants NR_2 de la façon suivante :

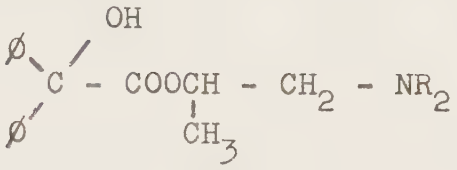
Dans la série :

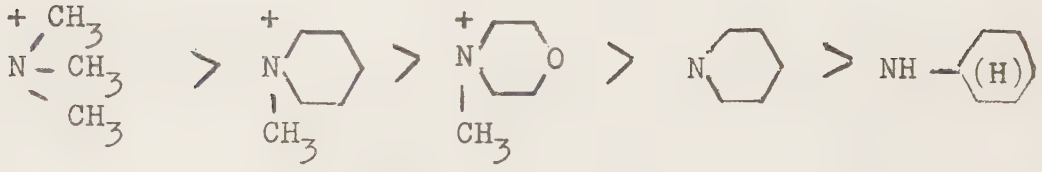


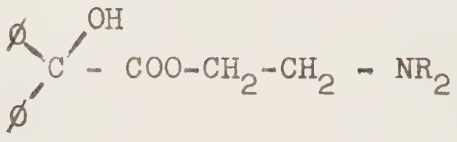


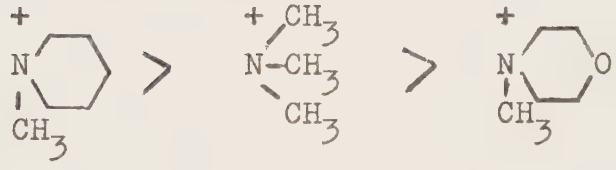
../..

Inversement, dans le cas des benzilates :









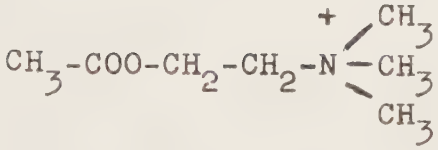
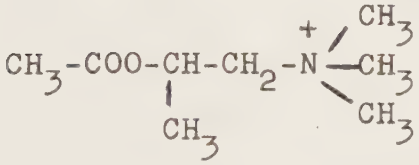
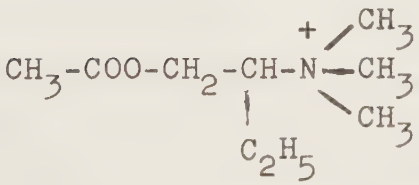
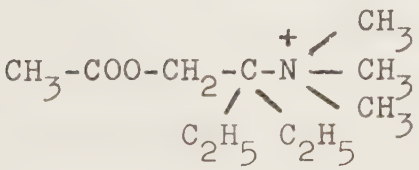
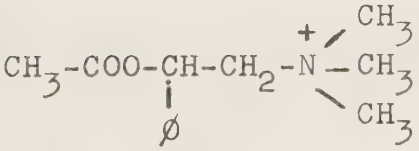
B - SUBSTITUTION DE LA CHAINE CENTRALE

I/- Passage des agonistes aux antagonistes par encombrement de la chaine centrale.

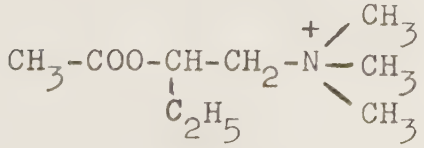
a)- Cas des esters

Les résultats sont groupés dans le tableau III

TABLEAU III

	α	E	pD_2	pA_2	Origine
		I	7,0		ARIENS (3)
		I	6,9		ARIENS (3)
		I	4,8		VILLA (IO)
		0,8	4,4		VILLA (IO)
		0		4,06	N.R

On peut encore citer un dérivé essayé dans des conditions un peu différentes :



$\frac{I}{20}$ Action acétylcholine SCHUELER (II)

../..

b)- Ethers ou Alcools

Dans deux molécules l'introduction d'un substituant phényle conduit à des antagonistes compétitifs. Il semble que les termes intermédiaires ne soient pas connus.

α E = I
pA_2 = 5,8
[ARIENS (I)]

α E = 0
pA_2 = 5,07

α E = I
pD_2 = 3,2
[ARIENS (I)]

α E = 0
pA_2 = 4,29

Pour les exemples précédents, l'effet du groupement phényle est plus sensible dans le cas de l'ester que dans celui de l'éther ou de l'alcool. On peut penser qu'un substituant volumineux s'oppose à la fixation sur le récepteur du groupement ester alors que ce dernier contribue fortement à l'affinité. Pour ce qui est de l'alcool le gain d'affinité pourrait être lié à l'accroissement d'hydrophobie.

2/- Substitution en β de la chaine centrale des antagonistes

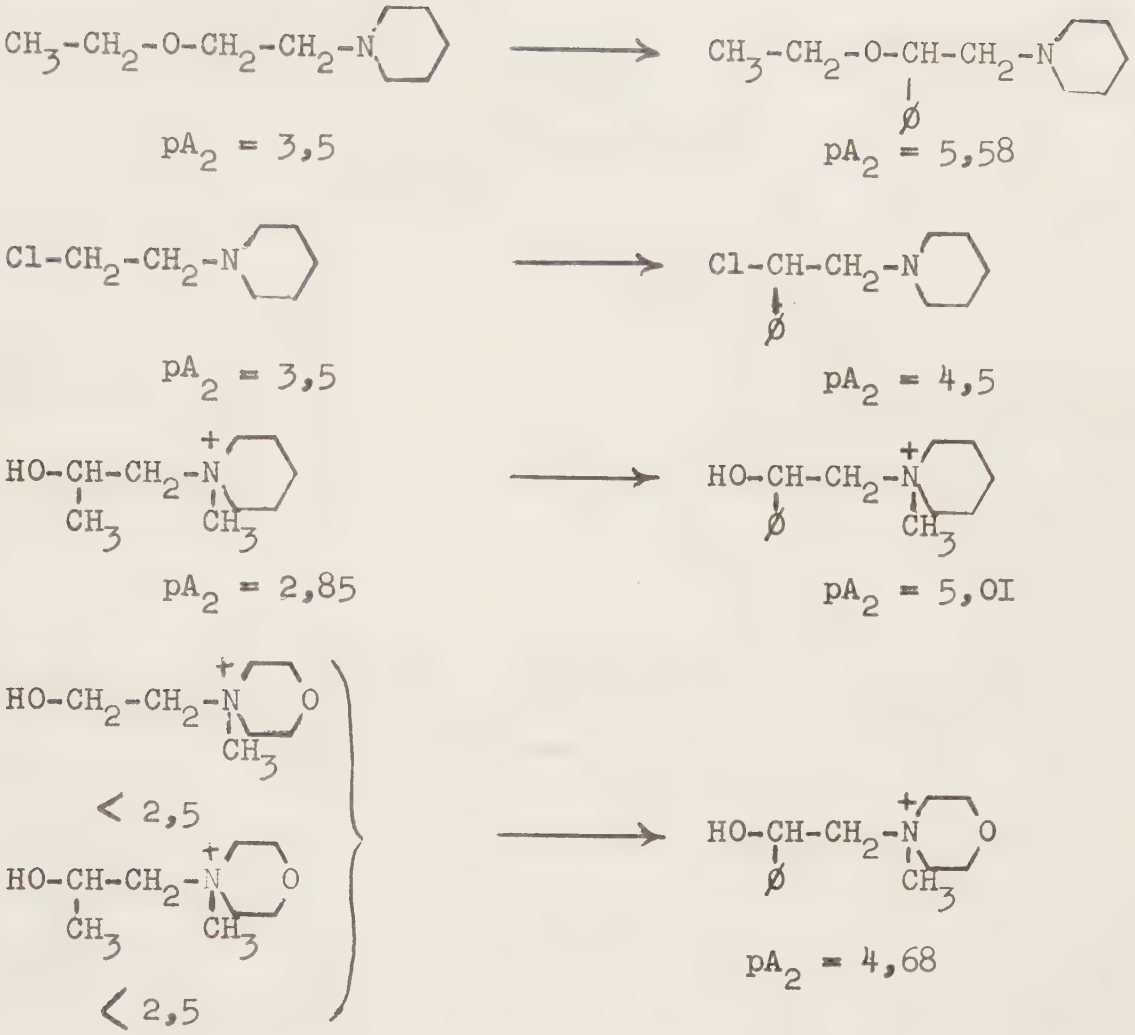
a) Ethers, alcools, dérivés halogénés

Tous les résultats dont nous disposons concernent des dérivés peu hydrophobes. L'introduction d'un groupement phényle est alors favorable à l'affinité.

pA_2 = 4,50

pA_2 = 6,17

../..



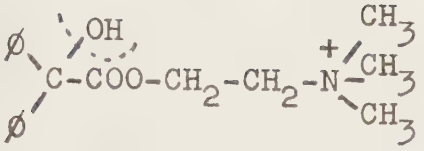
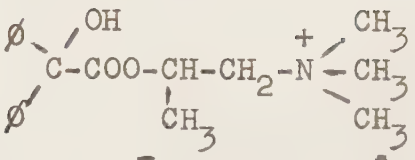
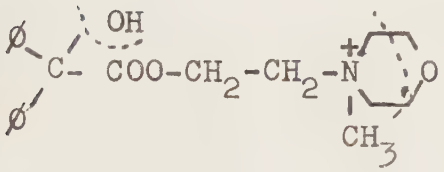
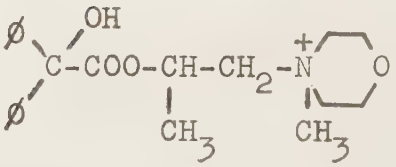
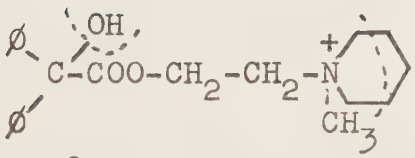
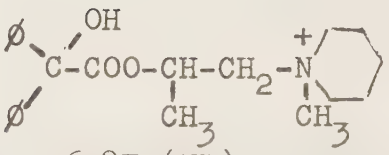
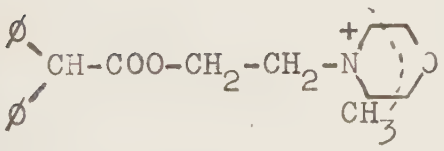
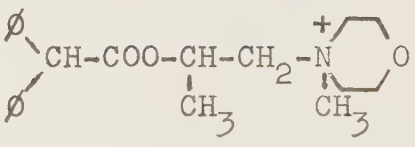
b) Esters

α)- Introduction d'un groupement méthyle (tableau IV)

Dans les 4 couples de dérivés suivants, l'influence de la méthylation en β varie assez nettement. On peut remarquer que dans les séries très hydrophobes l'influence de la méthylation est plus fortement défavorable.

../..

TABLEAU IV

	ΔpA_2	
		
8,6 [ARIENS(3)]	0,3	8,3 [ARIENS (3)]
		
6,76 (NR)	0,05	6,7I (NR)
		
8,03 [STEPHENSON (I2)]	I,I6	6,87 (NR)
		
6,I7 (NR)	0,72	5,45 (NR)

../..

β) Introduction d'un substituant phényle

$pA_2 = 8,6$ — $pA_2 = 5,I6$

[ARIENS (3)]

$pA_2 = 4,53$ — $pA_2 = 4,77$

[STEPHENSON (I2)]

Dans le premier cas, on peut remarquer une très forte diminution d'affinité alors que dans le second on constate une très légère augmentation. Il semble que deux types de facteurs entrent en jeu : d'une part l'encombrement qui nuit toujours aux interactions de la fonction ester avec le récepteur et d'autre part le changement d'hydrophobie qui joue differemment suivant les séries.

3/- Effet comparé des substitutions en α et en β dans les séries antagonistes.

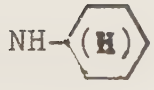
Le tableau V résume les résultats obtenus.

L'écart très net de pA_2 entre les 2 isomères de la série pipéridine fait penser que dans ce cas le rôle de l'empêchement stérique en β est très important.

Le dérivé de la morpholine non substitué présente une activité très proche de celle de l'isomère substitué en α . L'excès d'activité de ce dernier provient vraisemblablement à la fois d'un effet électrodonneur qui peut augmenter le pK ainsi que de l'effet hydrophobe. Inversement, le dérivé substitué en β possède un pK probablement inchangé et l'accroissement d'hydrophobie ne suffit pas à compenser l'effet stérique négatif. Dans la série de la cyclohexylamine, l'affinité non spécifique paraît peu influencée par la position du substituant méthyle.

../..

TABLEAU V

NR_2	A	B	pA_2	pD'_2
	H	CH_3	6,88	4,56
	CH_3	H	5,58	4,07
	H	H	5,66	<4
	H	CH_3	5,02	<4
	CH_3	H	5,92	$<4,5$
	H	CH_3		5,38
	CH_3	H		5,I6

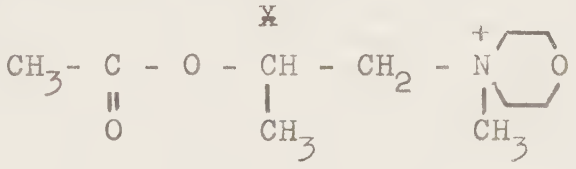
../..

4/- Note concernant la stéréospécificité.

Selon ARIENS et Coll. (3), les substitutions sur la chaine centrale conduisent à des isomères optiques inégalement actifs; ainsi les dérivés isomères de la méthylacétylcholine présentent des affinités inégales ($\frac{I}{200}$). Dans le cas des benzilates antagonistes, ces substitutions n'ont pratiquement plus aucune influence sur l'affinité alors qu'au contraire, la substitution d'un benzène par un thiophène ou un cyclohexane fournit des isomères d'activités très différentes.

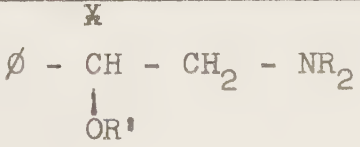
Parmi les dérivés susceptibles de présenter une isomérie optique que nous avons étudiés, il convient de distinguer plusieurs groupes :

I/- Agonistes partiels

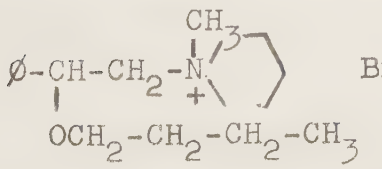


On considère en général que la stéréospécifité influence peu l'activité des dérivés de faible affinité (I).

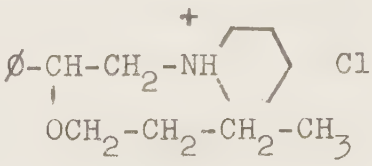
2/- Antagonistes dérivant de la phényléthylamine



Dans cette position, il est probable que la stéréoisomérie est peu influente puisque les dérivés sont antagonistes. Cette hypothèse se trouve confirmée par un travail de PEDRAZZOLI et DALL'ASTA (I3). Selon ces auteurs, les deux isomères optiques de



Br$^-$ et



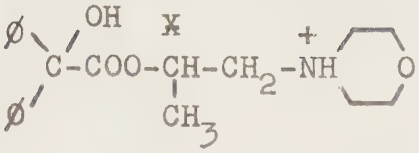
Cl$^-$ ont même action spasmolytique

3/- Benzilates substitués en β par un groupement méthyle

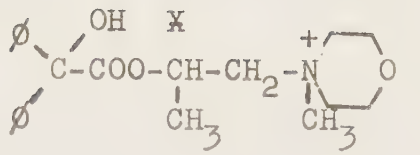
Il est vraisemblable que les isomères optiques des dérivés

../..

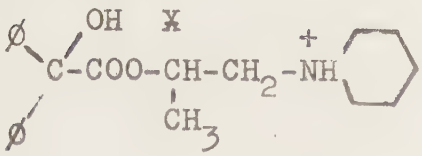
suivants:



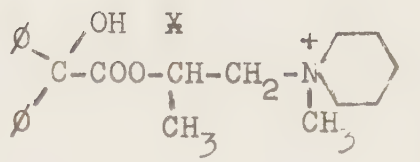
et



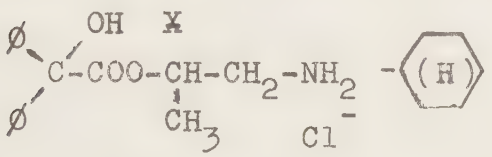
ou encore



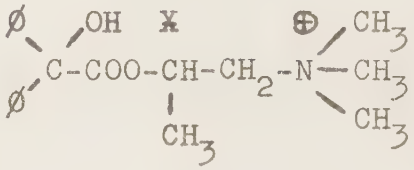
et



ainsi qu'à plus forte raison

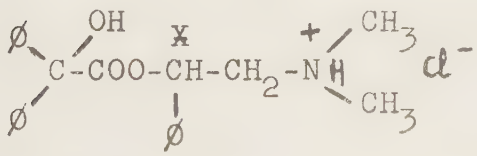


ont des activités assez semblables comme cela a pu être montré par ARIENS pour

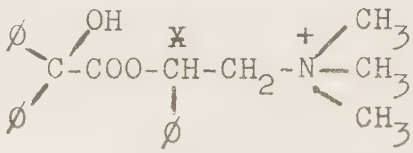


(3).

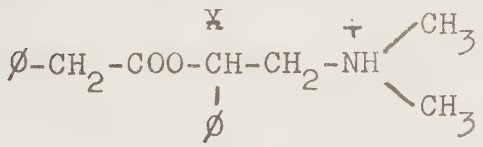
5/- <u>Autres benzilates et divers</u>. Les problèmes posés par les isomères des dérivés de la phényléthylamine tels



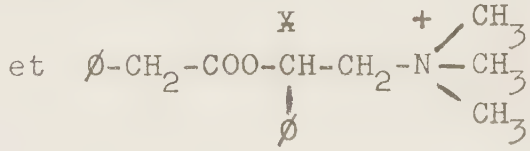
et



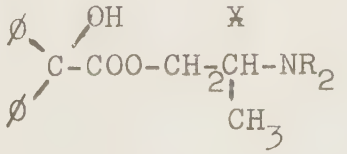
sont légèrement différents compte tenu du fort volume du substituant phényle. Toutefois, il est plausible que, comme précédemment, l'isomérie exerce peu d'influence ; ainsi sans doute pour :



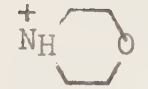
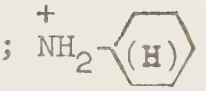
et



Plus complexes peuvent être les cas de :



../..

(NR_2 = ;  ; ) dans la

mesure où l'influence des stéréoisomèries au voisinage de l'azote ne semble pas avoir été explorée dans les séries antagonistes .

C - VARIATIONS DU GROUPEMENT ACETYLE

I°/- Série Ø - CH(OR') - CH_2 - N⬠

La bibliographie (8) nous permet ici de connaître divers paramètres décrivant R'. Ainsi, est-il possible d'avoir une idée de l'influence de ces derniers sur l'activité (tableau VI), figure 3.

TABLEAU VI

R'	π	σ^{X}	E_S	pA_2, mesuré	pA_2 calculé
H	0	0,49	I,24	3,86	3,93
CH_3	0,50	0,00	0,00	5,03	4,92
C_3H_7	I,50	- 0,II	- 0,36	6,55	6,2I
iC_3H_7	I,37	- 0,I9	- 0,47	5,86	6,I0
C_4H_9	2,00	- 0,I3	- 0,39	6,59	6,5I
iC_4H_9	I,87	- 0,I2	- 0,93	6,26	6,45
iC_5H_{II}	2,37	- 0,06	- 0,35	6,52	6,58
$ØCH_2$- CH_2	3,I9	0,08	- 0,38	6,30	6,27

Nous avons utilisé un programme de régression multilinéaire.

Les résultats de l'analyse de regression[X] conduisent à proposer le modèle suivant :

$$pA_2 = -0,468\pi^2 + 2,228\pi + 3,926$$

$$n = 8 \; ; \; r^2 = 0,96 \; ; \quad s = 0,22$$

X - Tous les calculs de ce type, cités dans cette thése, ont été faits par le Centre de Calcul de l'Université de Provence que nous remercions. L'usage des résultats engage par contre notre seule responsabilité.

../..

Figure 3

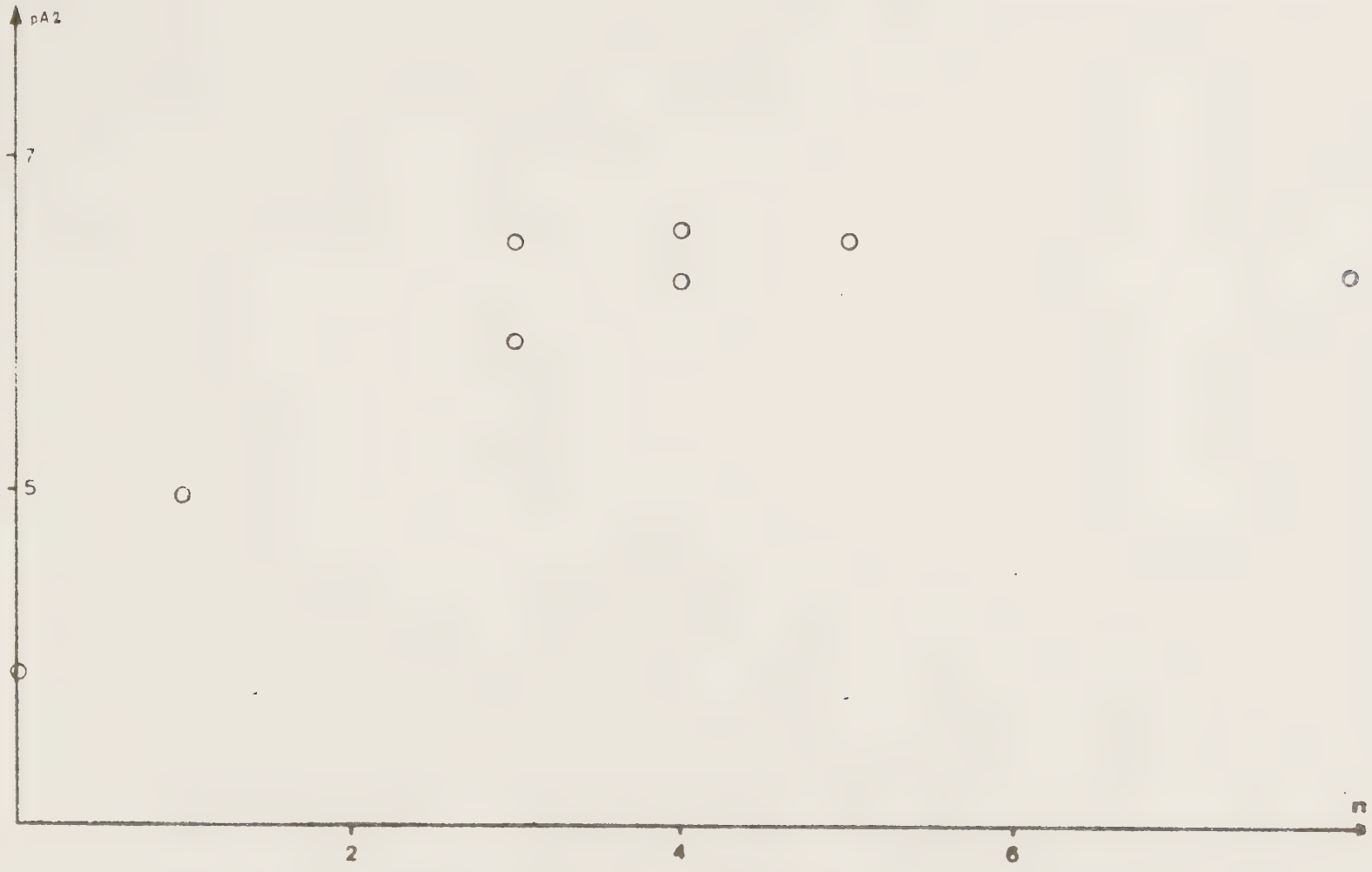


Figure4

La corrélation pourrait être légèrement améliorée en introduisant le paramètre E_s, mais cela aurait sans doute assez peu de valeur.

Bien que le paramètre π soit assez significatif sur le plan statistique, il convient de tempérer l'enthousiasme en remarquant par exemple que, si l'on avait pris (à la place de π) le nombre d'atomes de carbone contenus dans R', la corrélation serait tout aussi bonne (figure 4).

2°/- L'exemple le plus complet des variations étudiées se trouve dans la série morpholinium (tableau VII A)

On constate que l'introduction de deux groupements phényle conduit d'un agoniste partiel à un antagoniste ; on peut interpréter le gain d'affinité par une croissance d'hydrophobie. On remarquera que la fonction alcool des benzilates augmente à nouveau l'affinité (cela est connu et on admet en général l'existence d'un site actif spécifique). Le remplacement de la fonction ester par un groupement éther ne semble pas nuire à l'affinité. Enfin, la position des deux phényles ne parait pas essentielle puisque la disparition d'un phényle terminal et l'introduction de celui-ci dans la chaîne centrale conduit à un dérivé d'activité à peu près équivalente. Lorsqu'on fait varier le reste $\emptyset\text{-}CH_2\text{-}CH_2$, on constate que l'affinité passe par un maximum qui correspond au groupement $_iC_5H_{II}$ (tableau VII B).

../..

TABLEAU VII A

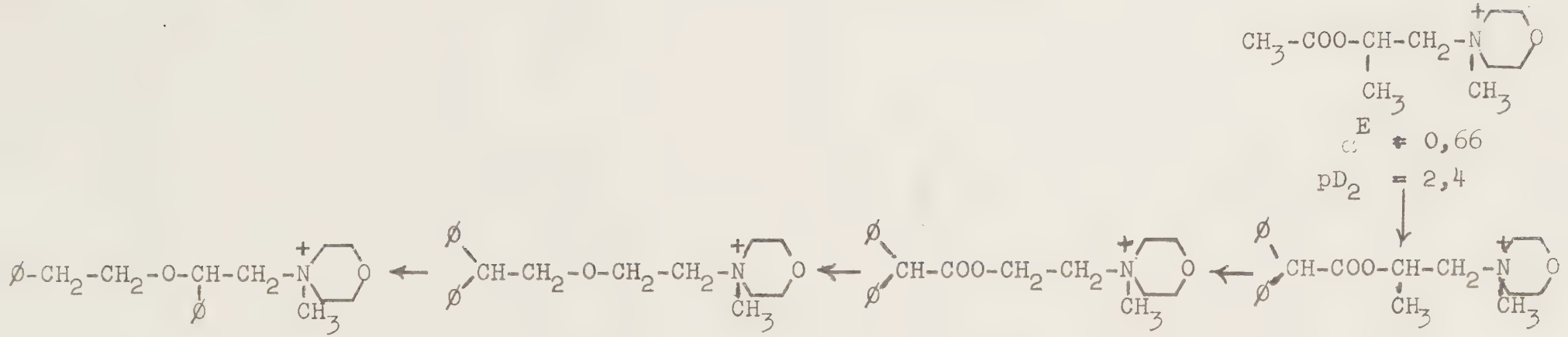
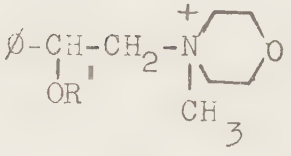


TABLEAU VII B



R'	pA_2
$CH_2-CH_2-\emptyset$	6,2I
$i^{C_5H_{II}}$	6,74
$i^{C_3H_7}$	6,27
C_2H_5	5,99
H	4,68

Compte tenu des résultats obtenus dans la série pyrrolidine, il nous a semblé intéressant de rechercher s'il existait également une corrélation entre $\Sigma\pi$ et pA_2 dans l'ensemble de la série morpholinium. Les résultats correspondant figurent dans le tableau VIII et sont représentés graphiquement par la figure 5.

On notera que $\Sigma\pi$ a été calculé selon la règle d'additivité à partir des chiffres donnés par CRAIG (8). Nous avons utilisé pour le groupement ester la valeur π = -0,77 évaluée dans le travail de LEO et Coll. (I4).

L'utilisation des valeurs citées par BOWDEN et YOUNG (I5) n'a donné aucun résultat [X].

X - On peut se demander si π expérimental octanol/eau est plus significatif que π théorique lorsqu'il s'agit d'étudier la fixation de molécules sur des protéines.

../..

TABLEAU VIII

$$pA_2 = -0,496\ \pi^2 + 3,964\ \pi - I,285$$

$$n = II\ ,\ r^2 = 0,97\ ,\ s = 0,26$$

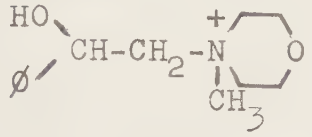
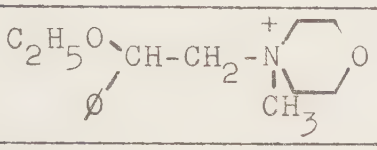
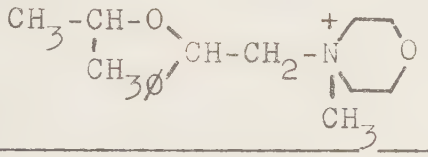
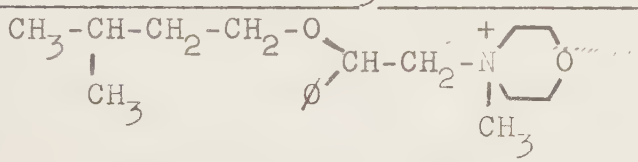
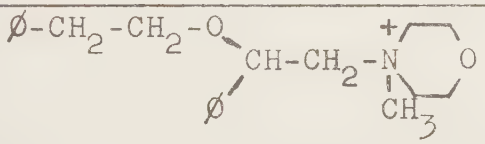
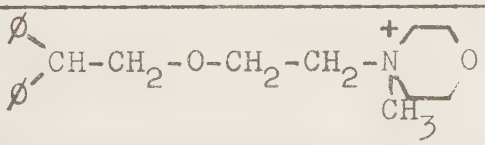
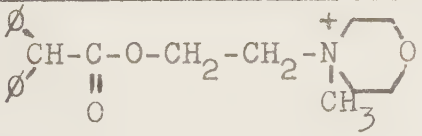
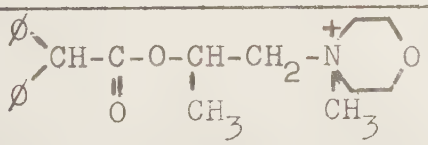
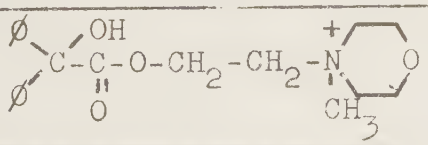
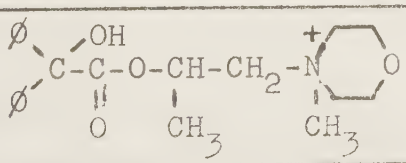
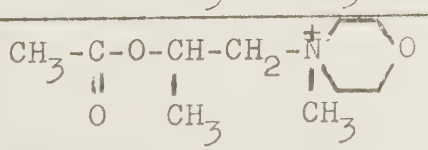
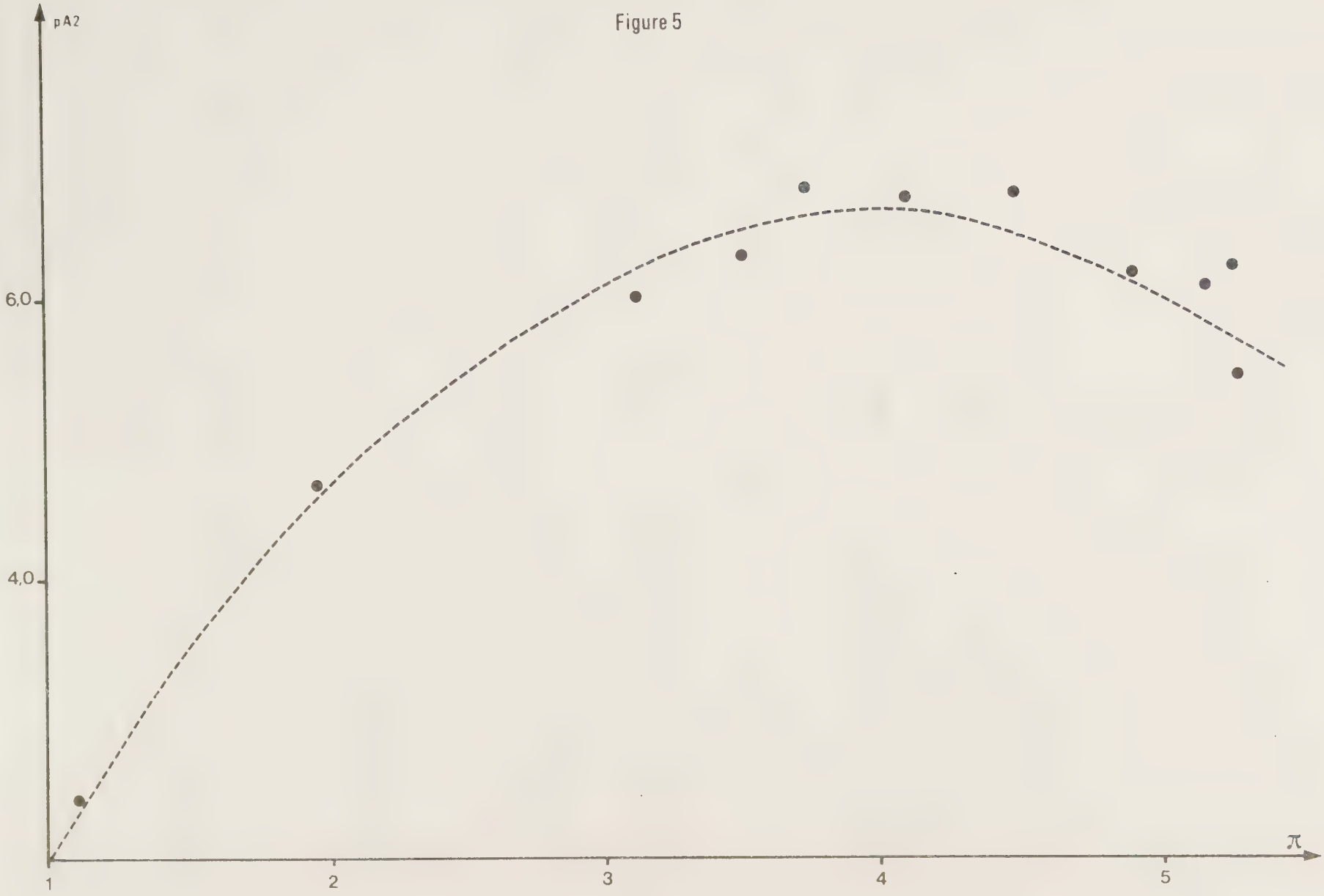
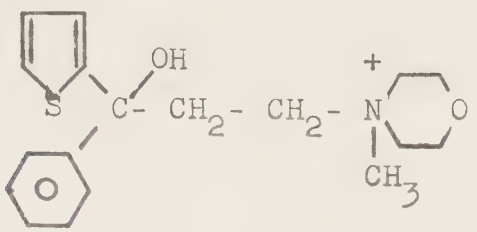
	$\Sigma\pi$	pA_2 tr=	pA_2 c=	ΔpA_2
	I,90	4,68	4,46	0,22
	3,09	5,99	6,23	-0,24
	3,46	6,27	6,49	- 0,22
	4,46	6,74	6,53	- 0,2I
	5,22	6,2I	5,90	0,3I
	5,I6	6,05	5,97	0,08
	4,86	6,I7	6,27	- 0,I0
	5,23	5,45	5,88	- 0,43
	3,70	6,7o	6,59	0,I1
	4,07	6,7I	6,63	0,07
	I,I0	2,40	2,47	- 0,07

Figure 5



Enfin, nous remarquerons que deux dérivés n'entrent pas dans la correlétion :

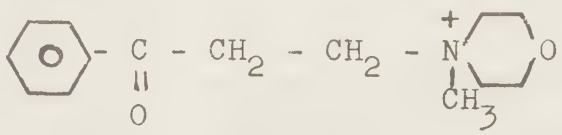
a)-



Iodure de tiémonium

Ce dérivé est la VISCERALGINE®; son affinité est en principe plus élevée (I6) que celle que l'on pourrait calculer à partir de la corrélation précédente. Par rapport aux autres produits de la série, la Viscéralgine® se caractérise par la présence d'un carbone asymétrique dans une zone très proche de celle qui est réputée influente et inversement l'absence d'atome d'oxygène à une distance de deux atomes de carbone de l'azote.

b)-



Dans ce cas, le corps est antagoniste non spécifique. Comme dans l'exemple précédent, l'atome d'oxygène n'est pas dans une position convenable.

Remarque : Si l'on extrait de la corrélation précédente le point N° II, on obtient les résultats suivants :

$$pA_2 = - 0,46I\pi^2 + 3,68I\pi - 0,743$$

$$n = IO, \quad r^2 = 0,86, \quad s = 0,27$$

[la constante (-0,743) n'est pas significative]

3°)- Signification des résultats précédents.

Les deux corrélations signalées attirent l'attention sur le rôle joué dans l'affinité par les facteurs hydrophobes. La valeur élevée du coefficient de regression conduit à penser que, dans les deux séries précédentes et pour l'échantillon examiné, les autres paramètres exercent peu d'influence. Cela revient à dire en l'occurrence :

...

a - que l'encombrement de la fonction ester par un groupement methyle exerce peu d'influence dans la série morpholinium ;

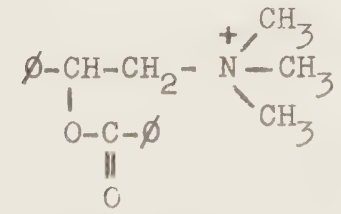
b - que le gain d'affinité, correspondant à l'introduction du groupement alcool des benzilates parait expliqué, dans la série morpholinium, par le caractère hydrophile de ce substituant ;

c - que la position des groupements hydrophobes ne joue pas un rôle essentiel, ce qui indique que l'hydrophobie intervient comme un caractère global de la molécule.

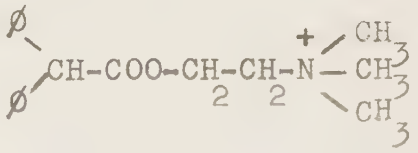
On ne saurait toutefois donner à ces résultats une portée tout à fait générale et il est bien certain que d'autres caractères sont nécessaires à l'activité. Ainsi tous les dérivés considérés sont notamment caractérisés par la présence d'un $\overset{+}{N}$ séparé par deux atomes de carbone d'un atome d'oxygène (éther, alcool, ou ester).

Le nombre de dérivés préparés dans d'autres séries (morpholine, diméthylamine, triméthylammonium, pipéridine, pipéridinium, cyclohexylamine) est trop faible pour y rechercher d'autres corrélations semblables. Nous retiendrons toutefois que ces séries ont permis de montrer sans ambiguité l'influence d'autres facteurs (stériques ou électroniques).

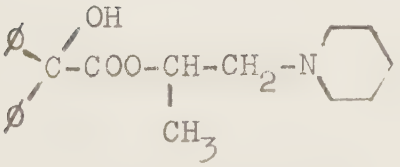
Nous rappellerons enfin deux exemples qui montrent bien l'insuffisance du seul paramètre hydrophobe :



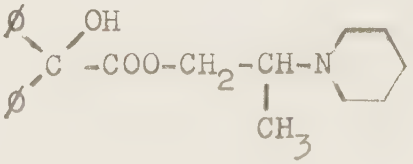
NR $pA_2 = 4,77$



STEPHENSON (I2) $pA_2 = 7,16$



$pA_2 = 5,58$



$pA_2 = 6,88$

...

CHAPITRE III

RECHERCHE D'UNE APPROCHE GENERALE

A - GENERALITES

B - SERIES ANTAGONISTES

C - SERIES AGONISTES

D - ESSAI D'INTERPRETATION

A - GENERALITES

On peut récapituler les résultats obtenus comme suit :

I/- D'après les séries étudiées, on peut supposer l'intervention de deux ou trois sites actifs du récepteur :

- l'un correspond au groupement $\overset{+}{N}$: (site N°I)
- l'autre se lie à l'atome d'oxygène en position β par rapport à l'azote (ester, alcool ou éther) : (site N°2)
- enfin, dans le cas des esters de forte affinité, il est vraisemblable qu'un troisième site actif correspond à un deuxième oxygène (la fonction alcool des benzilates par exemple) : (site N°3)

L'intervention des facteurs électroniques dans l'affinité n'est évidente qu'en ce qui concerne le premier site : les groupements favorisant l'existence d'une charge positive sur l'azote augmentent l'affinité.

2/- A chacun des sites actifs correspond, dans la série étudiée une zone critique principalement caractérisée par des contraintes d'ordre stérique. Dans le cas des agonistes, il existe un optimum d'encombrement très précis en deçà et au-delà duquel l'activité intrinsèque et l'affinité sont très inférieures.

Dans le cas des antagonistes, les substituants volumineux peuvent augmenter l'affinité jusqu'à un certain point. Des contraintes stériques existent toutefois au voisinage de la fonction ester des dérivés très actifs. Enfin, on peut décrire un site stéréospécifique distinct de celui des agonistes [selon ARIENS (3)] .

3/- Toutes choses égales par ailleurs, il semble exister dans les séries antagonistes un optimum d'hydrophobie. C'est ce dernier point qui constitue l'apport le plus original de notre travail, aussi nous interrogerons-nous sur sa signification. A l'aide d'exemples

../..

souvent empruntés à la bibliographie, nous étudierons successivement :

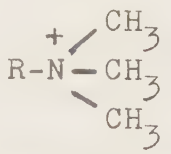
- L'influence des paramètres hydrophobes dans les séries antagonistes ;

- l'influence des paramètres hydrophobes dans les séries agonistes :

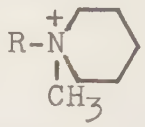
- et enfin, nous tenterons de donner une interprétation du modèle observé.

B - SERIES ANTAGONISTES

Nous avons voulu tester le modèle, précédemment appliqué aux dérivés du morpholinium, dans d'autres séries. Nous avons choisi des molécules du type suivant:



et



Les valeurs de pA_2 sont empruntées à trois sources : STEPHENSON et Coll.(S) (I2),ARIENS et Coll. (A_{I-2}) (I) (3) et ce mémoire (NR). Le calcul de $\Sigma\pi_R$ est obtenu à partir de chiffres donnés par CRAIG (8) ou LEO et Coll. (I4).

Les molécules de référence* figurent dans le tableau N°IX. Dans le cas des isomères optiques nous avons indiqué la valeur du pA_2 du mélange racémique. Les molécules possédant un carbone asymétrique très influent sur l'affinité sont caractérisées par un astérisque (*) et celles dont le substituant R ne possède aucun hétéroatome par un carré (□).

Le graphique $pA_2 = f(\Sigma\pi_R)$ fait apparaître les résultats relatifs aux trois sous-séries (figure 6_a) :

- Du dérivé I au dérivé 20, les points se rangent à peu près sur une parabole (I).

Les points les plus éloignés correspondent principalement d'une part aux trois molécules substituées au voisinage du groupement ester par un groupement encombrant (N° 3, 4 et 5 ; substituant phényle) et d'autre part aux deux benzilates (N° 6 et 20) peu encombrés.

Dans le premier cas on peut penser que le site fonctionnel N°2 du récepteur (voir paragraphe précédent) n'est pas atteint, alors qu'au contraire un site N°3 intervient dans le second cas (correspondant sans doute à la fonction alcool des benzilates de cette série).

- Du dérivé 2I au dérivé 26, tous les produits (dont

../..

* Dérivés normaux (●)

l'affinité est proche de celle des molécules N° 6 et 20) sont très au-dessus de la parabole (I). L'influence de l'isomérie optique témoigne que ces dérivés doivent leur affinité à la fixation sur quatre sites du récepteur.

- Les dérivés 27 à 33, dont le substituant R ne possède aucun hétéroatome se rangent à peu près sur une droite (II) qui constitue vraisemblablement la branche ascendante d'une parabole distincte de la parabole (I).

Une analyse de regression délibérement limitée aux modèles indiqués ci-dessus fournit les résultats suivants :

COURBE (I)

$$pA_2 = - 0,337\,\pi^2 + 3,257\,\pi - 1,416$$

$$n = 20 , \quad r = 0,65 , \quad s = 1,20$$

ou encore :

$$pA_2 = 0,636\,\pi + 3,114$$

$$n = 20 , \quad r = 0,57 , \quad s = 1,26$$

- si on retire les points 6 et 20

$$pA_2 = - 0,061\,\pi^2 + 1,101\,\pi + 2,034$$

$$n = 18 , \quad r = 0,74 , \quad s = 0,82$$

ou encore :

$$pA_2 = 0,622\,\pi + 2,852$$

$$n = 18 , \quad r = 0,75 , \quad s = 0,80$$

../..

- si on retire les points 3, 4 et 5

$pA_2 = - 0,3II\,n^2 + 3,I82\,n - I,3I4$

n = I7 , r = 0,73 , s = I,I5

ou encore :

$pA_2 = 0,802\,n + 2,737$

n = I7 , r = 0,67 , s = I,20

- si on retire les points 3, 4, 5 et 6

$pA_2 = - 0,2I5\,n^2 + 2,47I\,n - 0,266$

n = I6 , r = 0,8I , s = 0,90

ou encore :

$pA_2 = 0,8I5\,n + 2,539$

n = I6 , r = 0,78 , s = 0,92

- si on retire les points 3, 4, 5, 6, 8, 20

$pA_2 = - 0,078\,n^2 + 0,35I\,n + 3,047$

n = I4 , r = 0,95 , s = 0,39

ou encore :

$pA_2 = 0,I24\,n + 3,642$

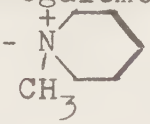
n = I4 , r = 0,96 , s = 0,38

../..

COURBE (II)

$pA_2 = 0,750\,\pi + 1,806$

$n = 7$, $r = 0,94$, $s = 0,27$

Nous avons également dressé le graphique $pA_2 = f\,(\Sigma\,\pi_R)$ dans la série R -  pour laquelle nous n'avons pris en considération que les dérivés de type "normal" (figure 6b).

La corrélation calculée dans les mêmes conditions que précédemment est alors la suivante :

$pA_2 = - 0,071\,\pi^2 + 1,226\,\pi + 2,820$

$n = 14$, $r = 0,87$, $s = 0,74$

ou encore :

$pA_2 = 0,785\,\pi + 3,322$

$n = 14$, $r = 0,87$, $s = 0,75$

si on supprime cette fois l'unique benzilate aberrant, la corrélation est améliorée

$pA_2 = - 0,034\,\pi^2 + 0,976\,\pi + 3,008$

$n = 13$, $r = 0,93$, $s = 0,56$

ou encore :

$pA_2 = 0,768\,\pi + 3,240$

$n = 13$, $r = 0,93$, $s = 0,54$

../..

Ainsi, les résultats précédents semblent confirmer l'existence d'un optimum d'hydrophobie dans certaines familles d'antagonistes muscariniques autres que les dérivés morpholinium.

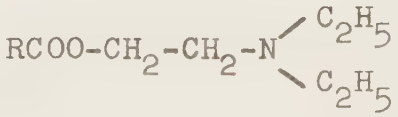
Toutefois, deux observations s'imposent :

I° - Les corrélations obtenues sont nettement moins significatives que dans les séries pyrolidine et morpholinium.

2° - Lorsqu'on cherche à augmenter la valeur de r en retirant certains points, la corrélation linéaire devient aussi significative que la corrélation parabolique.

D'une façon plus générale, on peut dire que la série morpholinium se comporte de façon particulière puisque les benzilates entrent parfaitement dans la corrélation. Tout se passe comme si la fonction alcool était incapable d'atteindre sur le récepteur un site spécifique.

Nous remarquerons aussi que BOWDEN et YOUNG (I5) ont trouvé des corrélations d'un type comparable dans des séries de formule générale :



$$\cdot \log \frac{I}{c} = -0,I74\,\pi^2 + I,I65\,\pi + 4,30$$

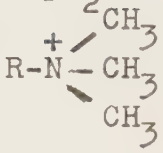
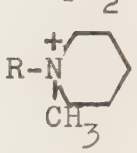
$n = I5 \qquad r = 0,57I \qquad s = 0,702$

$$\cdot \log \frac{I}{c} = -0,3I7\,\pi^2 + 2,596\,\pi + 6,646\,\sigma_I - 0,I97$$

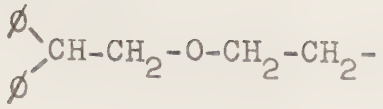
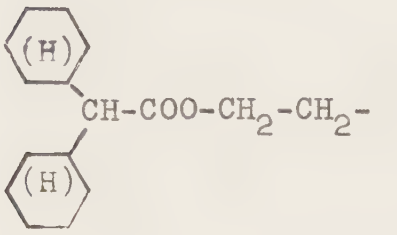
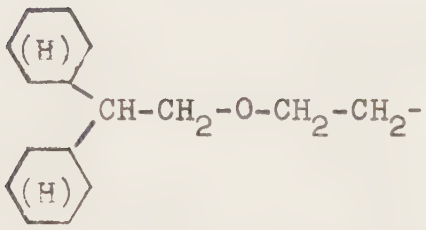
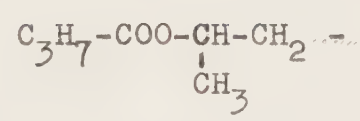
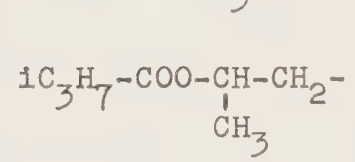
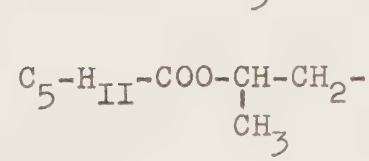
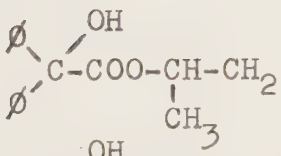
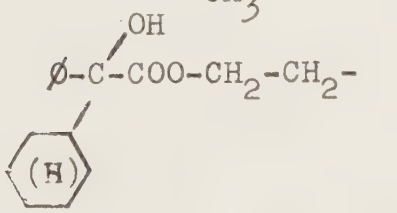
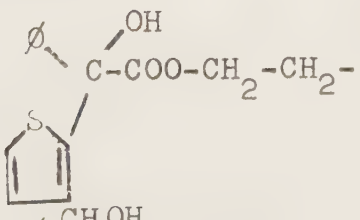
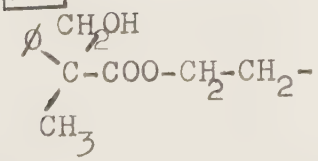
$n = I5 \qquad r = 0,835 \qquad s = 0,49I$

Il convient enfin de noter que d'autres corrélations, dans des séries analogues, font intervenir le paramètre σ (I7) (I8) (I9). Toutefois, les molécules en cause ont été essayées in vivo. Le paramètre σ peut alors rendre compte d'une effet métabolique (l'hydrolyse de la fonction ester par exemple) dont l'influence est sans doute prépondérante sur l'activité globale. De plus, ces dérivés ne sont pas réellement anticholinergiques par compétition mais spasmolytiques.

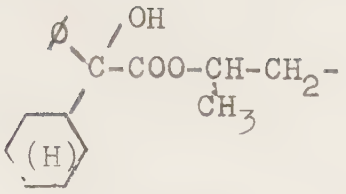
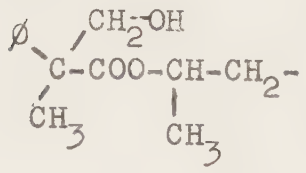
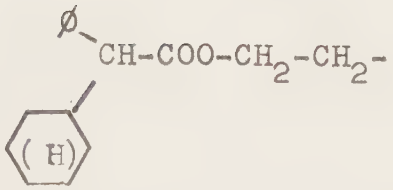
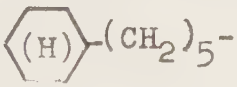
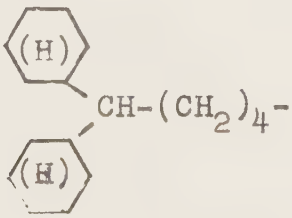
TABLEAU IX

N°	Origine	R	$\sum \pi_R$	pA_2 	pA_2 
I	NR	$HO-CH(\phi)-CH_2-$	I,90	4,29	5,0I
2	NR	$C_2H_5-O-CH(\phi)-CH_2-$	3,09	5,07	6,I7
3	NR	$CH_3-COO-CH(\phi)-CH_2-$	2,79	4,06	
4	NR	$\phi-CH_2-COO-CH(\phi)-CH_2-$	4,92	4,77	
5	NR	$\phi_2C(OH)-COO-CH(\phi)-CH_2-$	5,76	5,I6	
6	A	$\phi_2C(OH)-COO-CH_2-CH_2-$	3,70	8,6	8,03
7	A	$C_4H_9-COO-CH_2-CH_2-$	2,23	4,7	
8	A	$C_{II}H_{23}-COO-CH_2-CH_2-$	5,73	5,3	
9	S	$\phi-CH_2-COO-CH_2-CH_2-$	2,92	4,53	5,I9
I0	S	$\phi-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-$	3,22	4,70	5,37
II	S	$(H)-CH_2-COO-CH_2-CH_2-$	3,I2	5,07	5,43
I2	S	$(H)-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-$	3,42	5,28	5,73
I3	S	$\phi_2CH-COO-CH_2-CH_2-$	4,86	7,I6	7,26

../..

I4	S		5,I6	6,4I	6,I8
I5	S		5,38	7,69	8,I2
I6	S		5,68	7,25	7,30
I7	A		2,I0	3,8	
I8	A		I,97	3,8	
I9	A		3,I0	4,6	
20	A		4,07	8,3	6,87
2I X	A		3,96	9,I	
22 X	A		3,67	8,2	
23 X	A		2,63	8,I	

../..

24	X	A		4,33	8,9
25	X	A		2,94	7,4
26	X	S		5,I2	8,44
27	□	A_2	$C_8H_{\bar{I}7}$	4,00	5,0
28	□	A_2	$C_9H_{\bar{I}9}$	4,50	5,0
29	□	A_2	$C_{IO}H_{2\bar{I}}$	5,00	5,9
30	□	A_2	$C_{I2}H_{2\bar{5}}$	6,00	6,0
3I	□	S	ϕ-$(CH_2)_5$-	4,63	5,I8
32	□	S		4,89	5,39
33	□	S		6,63	7,0I
34		NR	HO-CH-CH_2- CH_3	0,2I	2,85
35		NR	CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-	I,03	4,50

../..

Figure6a

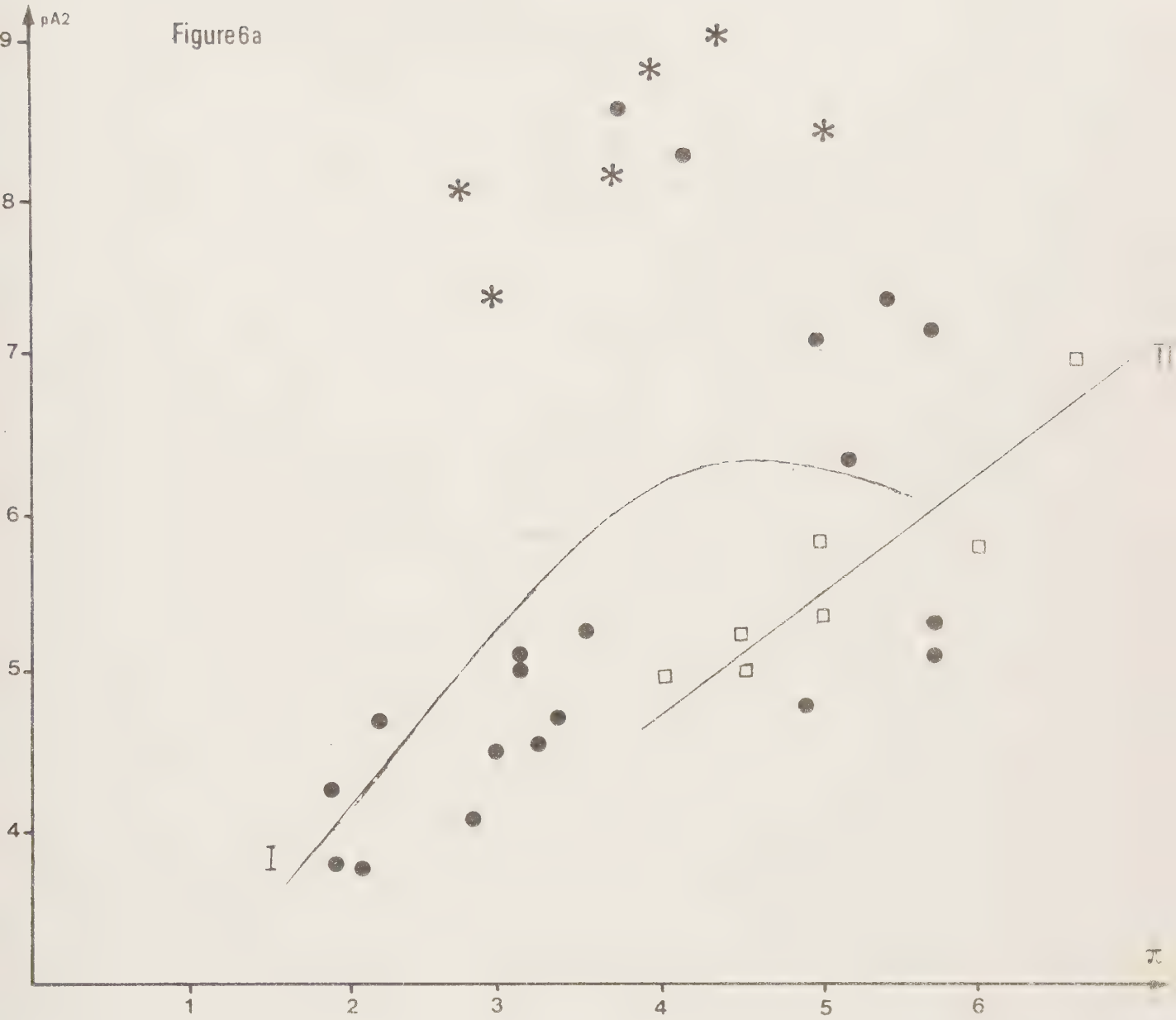
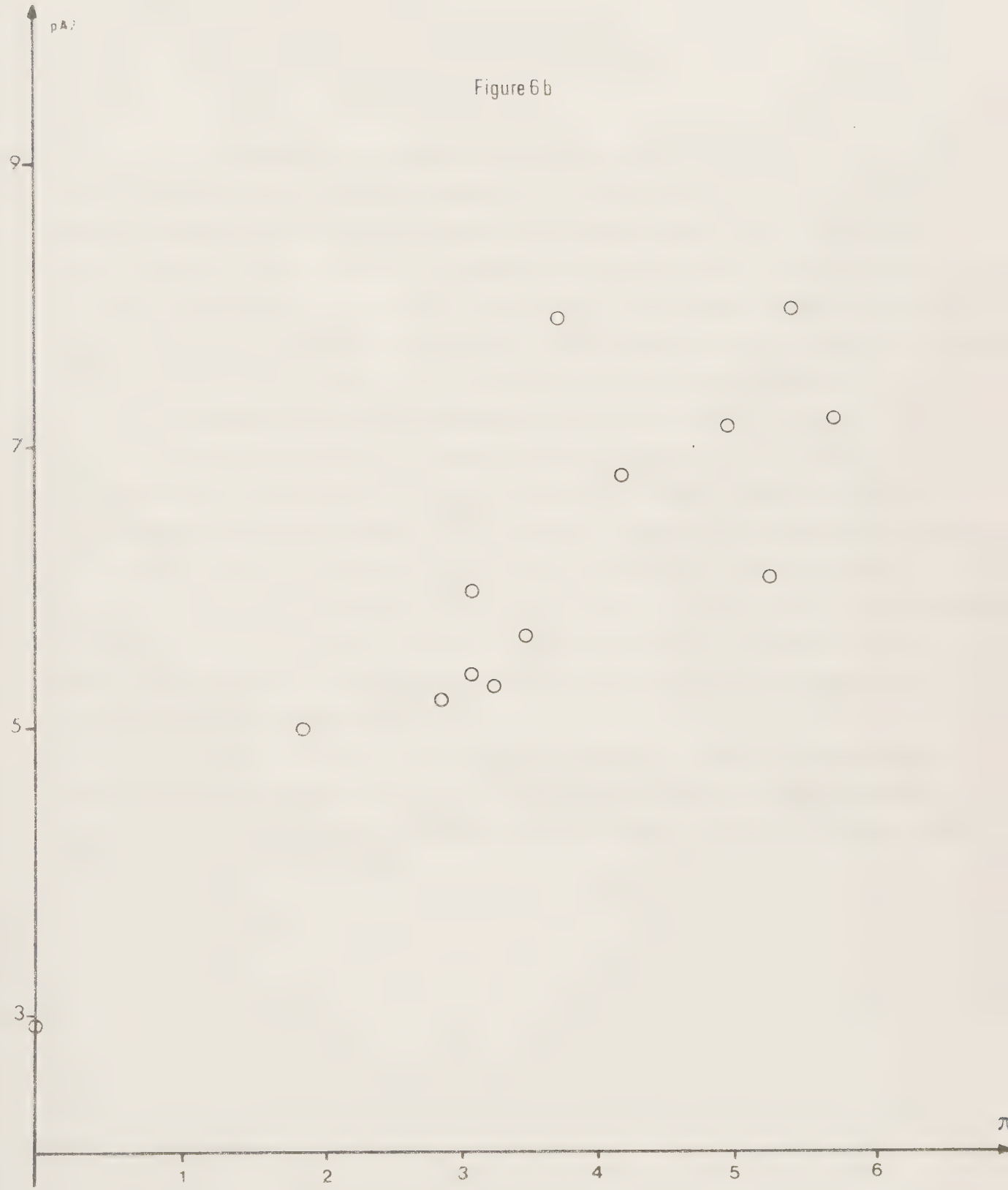


Figure 6 b



C - SERIES AGONISTES

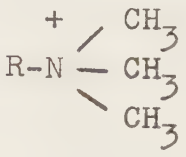
Il importe de préciser avant tout qu'on admet aujourd'hui que l'indice pD_2 , contrairement à l'indice pA_2 est dépourvu de signification moléculaire réelle (20)(2I). Dans ces conditions, nous n'aurons pas le droit de passer d'un indice à l'autre dans une série. Toutefois, de la même façon que l'on compare des ED 50, il est possible de comparer des pD_2. L'avantage du pD_2 tient à ce qu'en principe il caractérise une réaction moléculaire unique.

Compte tenu des réserves émises sur la signification du pD_2, nous n'accorderons à d'éventuelles corrélations aucune valeur définitive. Cependant, si nous constatons dans certaines séries l'existence d'un optimum d'hydrophobie, cela doit engager à étudier les variations de - log K_A véritable constante d'affinité.

Les résultats obtenus sont donnés sous forme de graphiques (figure 7 a b c). Dans ces différents cas, les valeurs de pD_2 sont dues à ARIENS (I) (3) tandis que $\Sigma\pi$ a été évalué à partir des chiffres donnés par CRAIG (8).

Nous noterons que lorsque dans une série on passe des agonistes aux antagonistes, on trouve un optimum d'hydrophobie pour le pD_2 et un autre optimum pour le pA_2; l'un et l'autre sont très nettement différents.

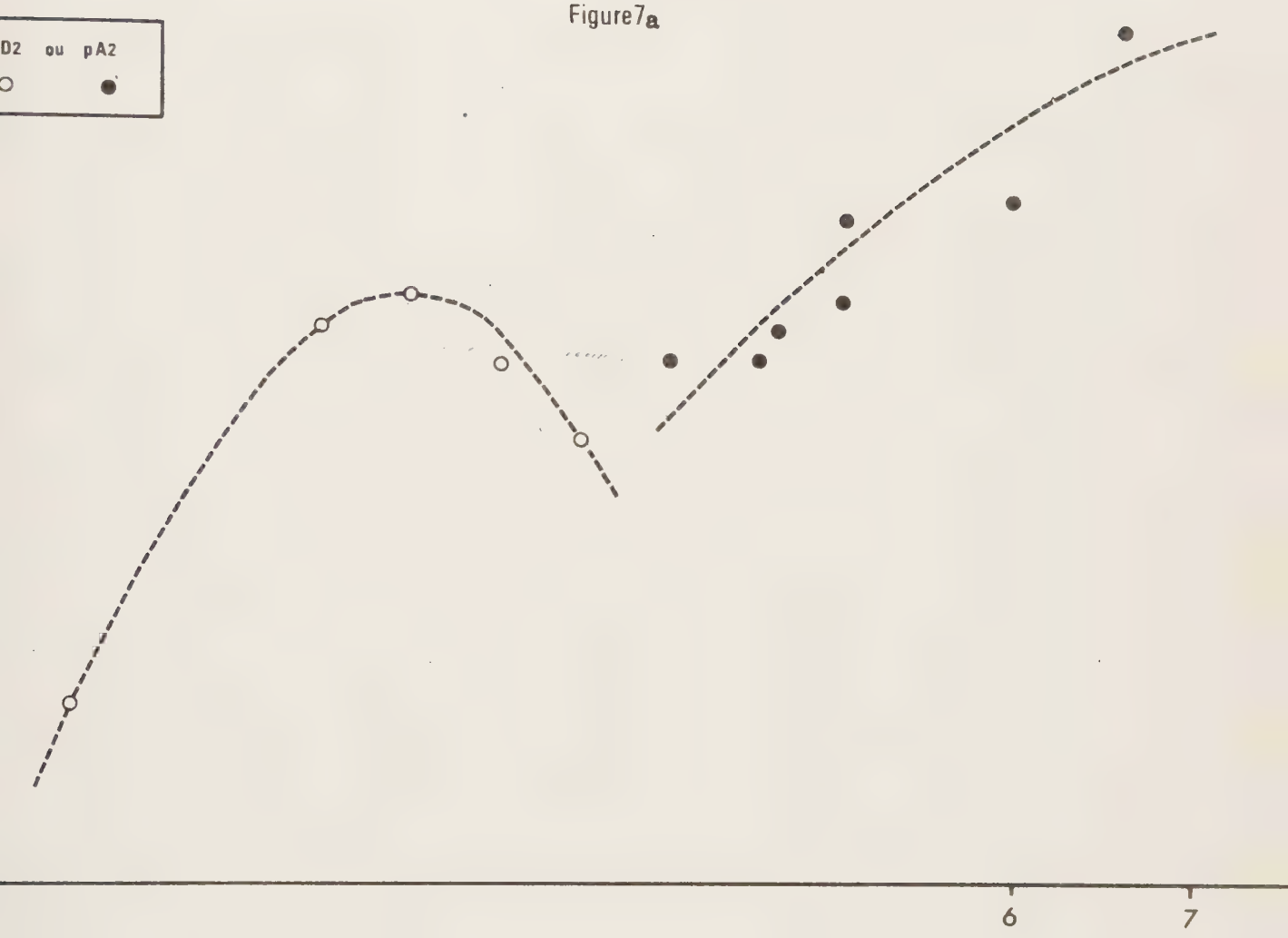
Alkyltriméthylammoniums (graphique 7 a)



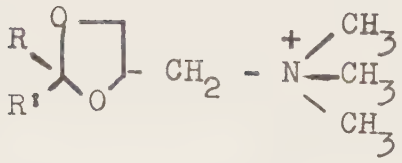
[ex.ARIENS (I)]

R	π	pD_2	R	π	pA_2
CH_3	0,5	3,0	C_8H_{17}	4,0	5,0
C_4H_9	2,0	5,2	C_9H_{19}	4,5	5,0
C_5H_{11}	2,5	5,4	$C_{10}H_{21}$	5,0	5,9
C_6H_{13}	3,0	5,0	$C_{12}H_{25}$	6,0	6,0
C_7H_{15}	3,5	4,6	$\phi(CH_2)_5$	4,63	5,18
			$\phi_2CH-(CH_2)_4$	6,63	7,01
			$\langle(H)\rangle-(CH_2)_5$	4,99	5,39

Figure7a



Série Dioxolanes (cf graphique 7 b)

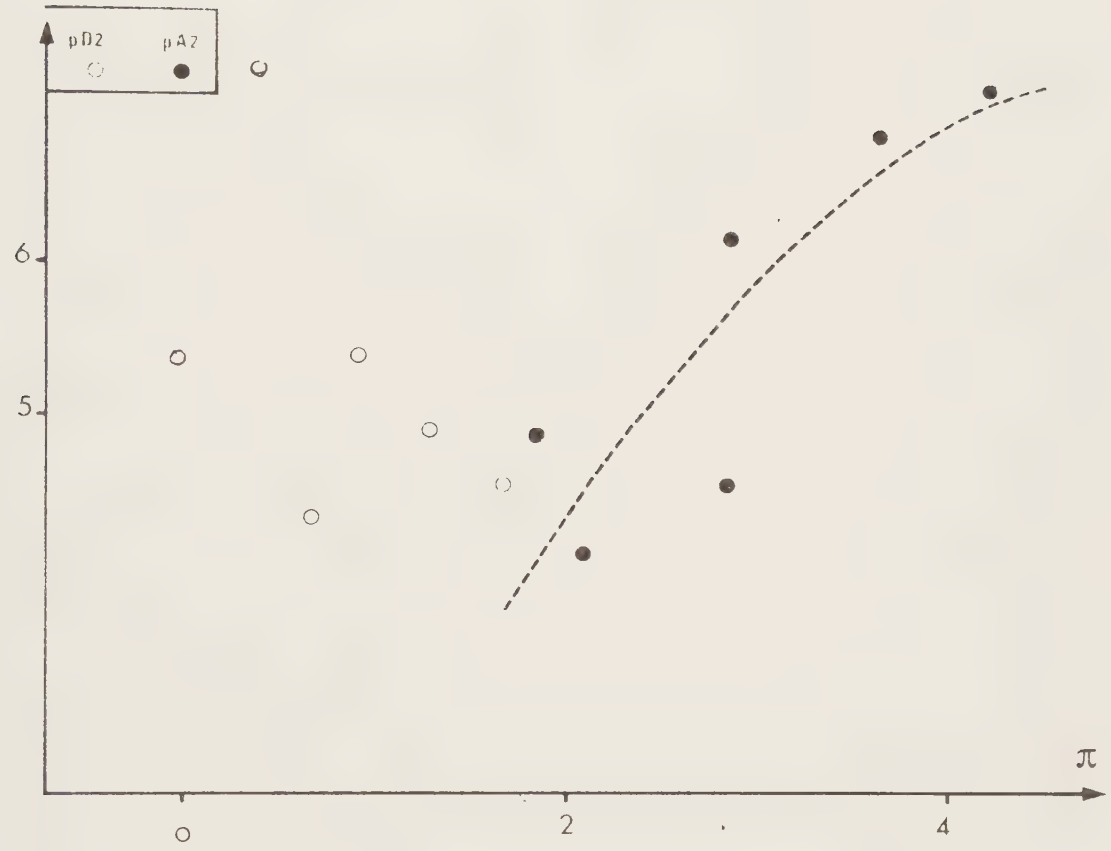


[ex. ARIENS (I)]

N°	R	R'	$\Sigma\pi$	pD_2	pA_2
I	H	H	0	5,3	
2	H	CH_3	0,37	7,2	
3	H	C_2H_5	0,87	5,3	
4	H	C_3H_7	I,37	4,9	
5	H	C_4H_9	I,87		4,9
6	H	C_6H_{I3}	2,87		4,5
7	H	ø	2,06		4,I
8	CH_3	CH_3	0,68	4,3	
9	C_2H_5	C_2H_5	I,68	4,6	
I0	C_3H_7	C_3H_7	2,68		6,2
II	C_4H_9	C_4H_9	3,68		6,9
I2	ø	ø	4,I3		7,I

../..

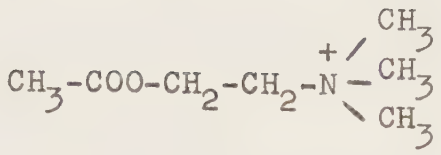
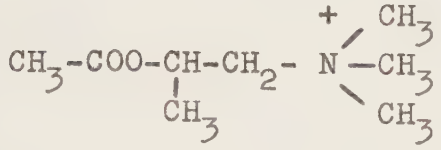
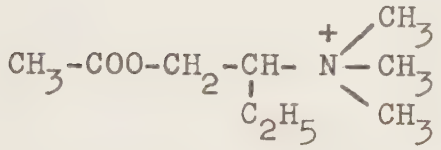
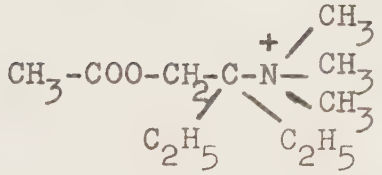
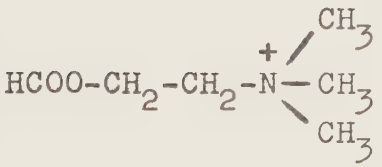
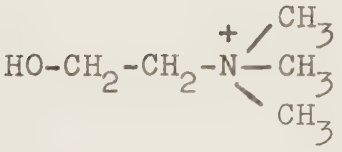
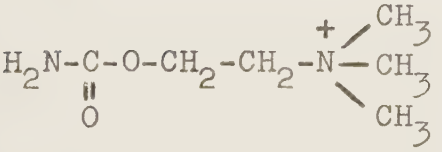
Figure 70



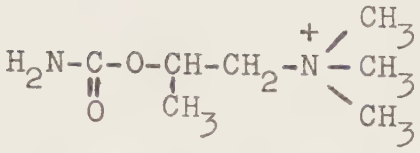
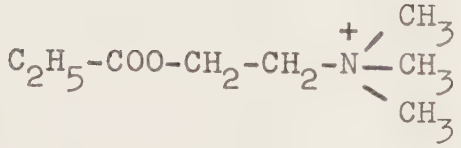
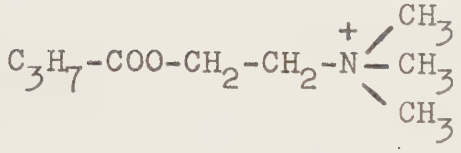
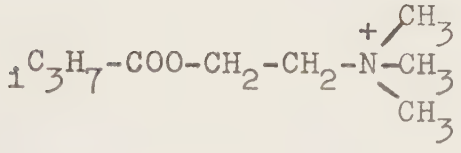
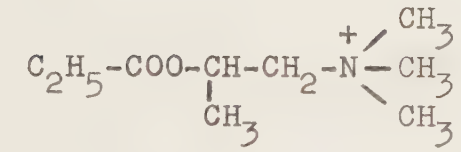
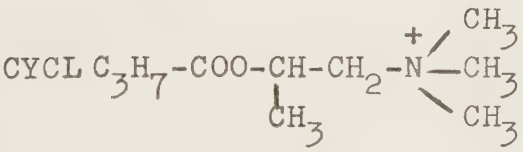
Agonistes dérivant de l'acétylcholine (figure 7 c)

[ex. ARIENS : A_I (I), A_2 (3)]

[ex. VILLA : (IO)]

N°	Formule	Origine	$\Sigma\pi$	pD_2
I		A_I	0,73	7,0
2		A_I	I,IO	6,3
3		V	I,60	4,8
4		V	2,4I	4,4
5		A_I	0,23	5,2
6		A_2	- 0,I6	3,2
7		A_2	- 0,I5	7,0

../..

N°	Formule	Origine	$\sum\pi$	pD_2
8		A_2	0,22	6,5
9		A_I	I,23	5,0
I0		A_I	I,73	3,8
II		A_I	I,60	4,I
I2		A_I	I,60	5,I
I3	CYCL 	A_I	(2,I0)	4,2

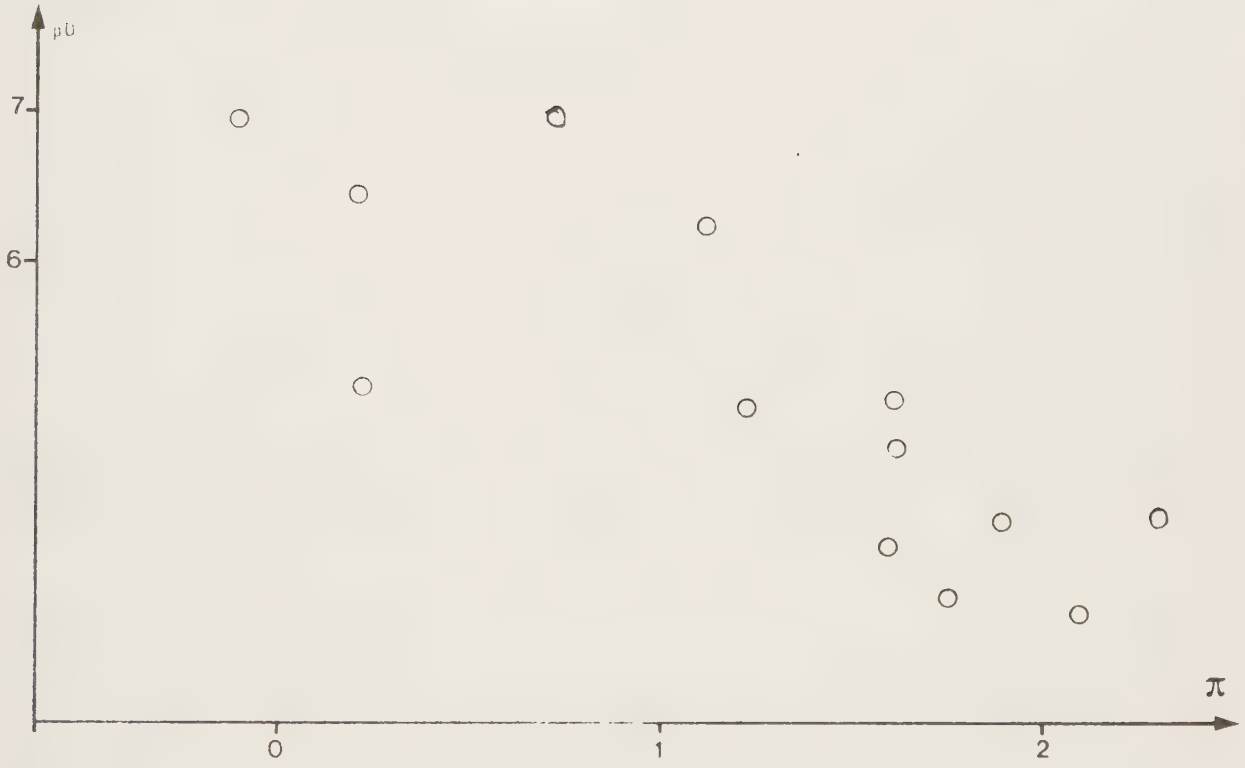


Figure 7c

D - ESSAI D'INTERPRETATION

On peut admettre, à la suite des observations précédentes, qu'il existe assez fréquemment un optimum d'hydrophobie favorable à l'affinité des antagonistes (et peut-être des agonistes) dans les séries muscariniques.

Remarques préliminaires :

I/- CRAIG (8) a décrit une corrélation entre π et E_s. On pourrait attribuer aux facteurs stériques les relations rapportées dans ce qui précède. Toutefois, les valeurs de E_s ne sont pas additives, alors que nous avons justement évalué $\Sigma\pi$ en considérant que les valeurs de π sont additives.

2/- On peut se demander si la branche descendante des paraboles ne traduit pas un empêchement stérique. Pour surprenant que cela paraisse, des raisonnements de ce type sont fréquents (au stade qualitatif) dans la littérature aussi bien pour les enzymes [HANSCH (22)] que les récepteurs [ARIENS (I)].

Hypothèses proposées

Nous n'envisagerons dans ce qui suit que les interprétations faisant intervenir le seul paramètre π.
Deux approches peuvent être suggérées :

I - Admettre l'existence d'aires hydrophobes de dimensions définies auxquelles correspondent des médicaments d'hydrophobie définie.

II - Accorder au modèle parabolique de HANSCH une signification conforme aux hypothèses de cet auteur et rechercher les analogies possibles avec le mécanisme supposé dans le cas du système expérimental utilisé.

../..

I - Hypothèse des aires hydrophobes (H_I)

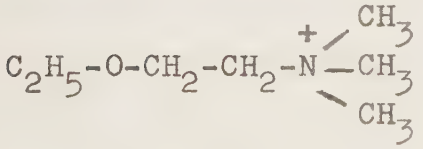
L'un des cas où les aires hydrophobes ont été le mieux étudiées est celui des cholinestérases. Nous nous réfèrerons, sur ce point, à la revue récemment publiée par KABACHNIC et Coll. (24).

Ces auteurs décrivent une véritable topographie des aires hydrophobes, caractéristiques des diverses cholinestérases, au voisinage des sites anioniques et estérasiques. Cependant, l'un des points les plus criticables de leur exposé concerne la sommation des effets de l'adsorption hydrophobe. KABACHNIC et Coll. (24) s'étonnent que les composés qui contiennent en principe les meilleurs substituants susceptibles d'occuper chaque aire hydrophobe ne soient pas très actifs. Pour expliquer ce résultat KABACHNIC et Coll. admettent que les fixations sur chaque aire s'influencent mutuellement.

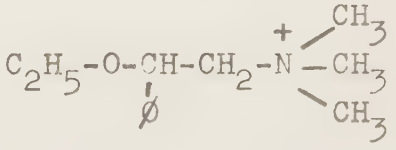
Une autre façon de traiter le problème serait de considérer l'hydrophobie comme une propriété de la molécule dans son ensemble tout en situant dans certaines zones les substituants hydrophobes.

Nos propres résultats, dans le cas des antagonistes de l'acétylcholine sont peu compatibles avec une sommation par zone des effets de l'adsorption hydrophobe.

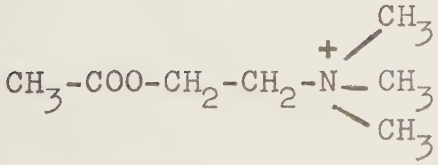
Ainsi, par exemple :



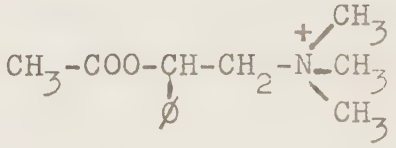
$pD_2 = 5,8$



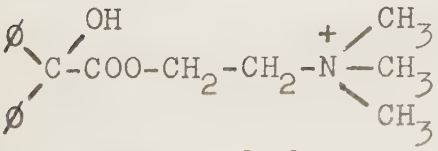
$pA_2 = 5,07$



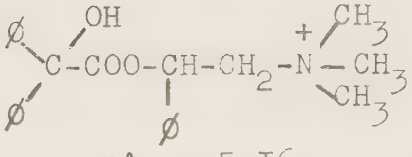
$pD_2 = 7,0$



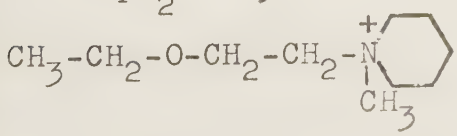
$pA_2 = 4,06$



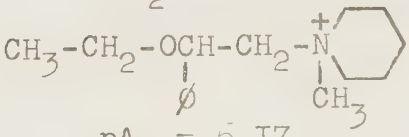
$pA_2 = 8,6$



$pA_2 = 5,16$



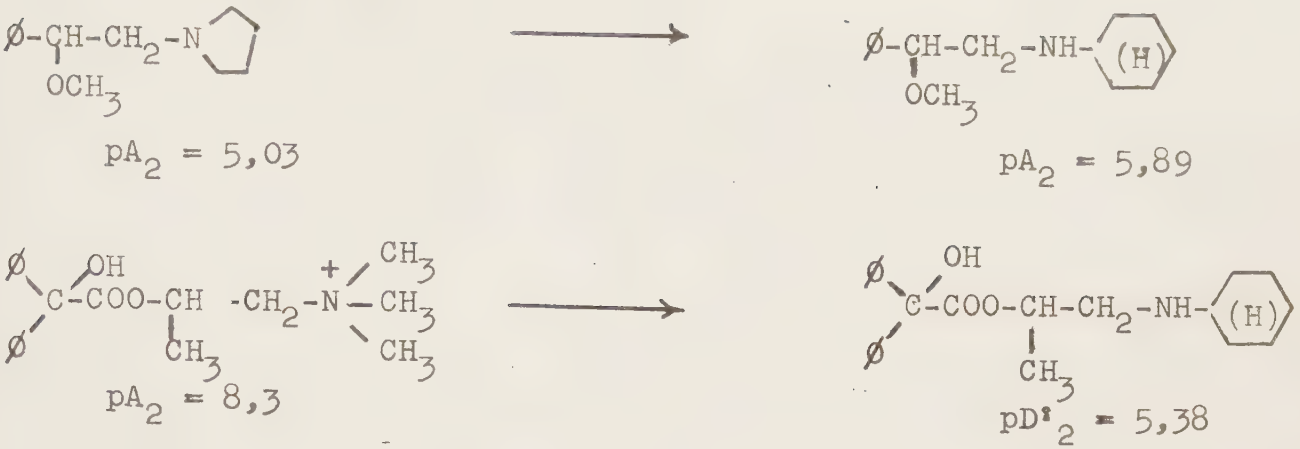
$pA_2 = 4,5$



$pA_2 = 6,17$

../..

ou encore :



A notre avis, considérer l'hydrophobie comme une propriété globale des molécules permet de mieux interpréter les résultats précédents.

Bien entendu, on ne saurait perdre de vue que le paramètre hydrophobe n'est pas seul en cause.

II - Hypothèses liées au modèle de HANSCH (H_{II})

I°/- Possibilité : le système expérimental donne lieu à un phénomène de localisation ($H_{II,1}$).

On admet que les produits ont à franchir divers compartiments aqueux séparés par des membranes biologiques (figure N°8).

Dans cette hypothèse, plusieurs auteurs ont démontré en s'appuyant sur des notions soit cinétiques (24), soit probabilistiques (25) que la vitesse (ou encore la probabilité) d'arrivée dans un compartiment $a_{n-\alpha}$ ou $b_{n-\beta}$ est représentée par un modèle parabolique (24) ou pseudoparabolique (25).

soit par exemple $V = -k_I (\log 1')^2 + k_2 (\log P) + k_3$

conduisant à des expressions du type

$$\log \left(\frac{I}{C} \right) = - k_I \pi^2 + k_2 \pi + k_3$$

Ainsi, l'interprétation la plus simple des résultats observés serait

../..

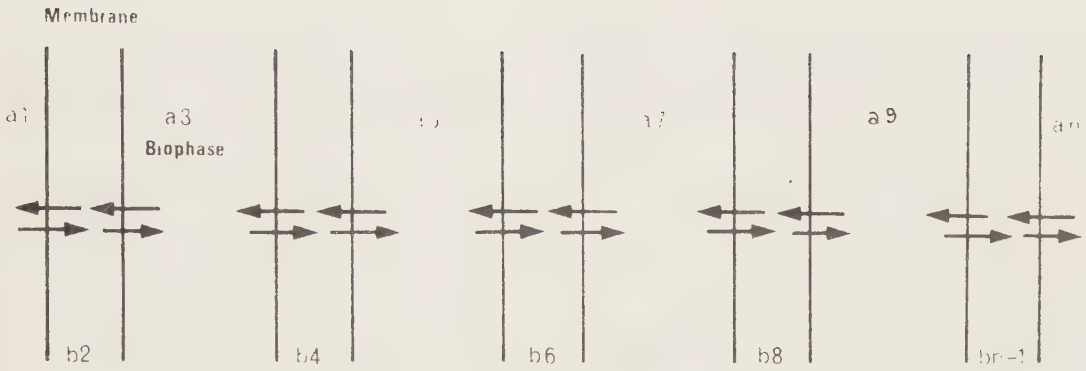


Figure 8

d'imaginer que la biophase représente un compartiment $a_{n-\infty}$ lorsque le bain de l'organe est le compartiment a_I.
Pourtant, cette hypothèse est peu plausible. En effet, elle conduit à remettre en cause la définition du pA_2 qui est en principe une constante moléculaire. Or certains résultats comparant l'affinité moléculaire à l'affinité évaluée à partir de systèmes cellulaires ou même pharmacodynamiques semblent confirmer la validité de l'indice pA_2 (26) (27).

2° possibilité : le phénomène de fixation sur le récepteur est l'analogue d'un mécanisme de localisation ($H_{II,2}$)

Ce qui, dans l'hypothèse de HANSCH, conduit à un modèle parabolique peut être défini comme suit : l'élément déterminant du phénomène n'est pas autre chose qu'une succession de fixations et de libérations d'une substance par une barrière biologique baignant dans des milieux dont la concentration en cette substance est une conséquence des échanges précédents.
On peut imaginer que les attouchements moléculaires précédant la fixation d'une petite molécule sur son récepteur sont du même type.
Ainsi par exemple, la prise de position des anticholinergiques sur leur récepteur pourrait donner lieu aux phénomènes suivants :
Le médicament est d'abord extrait de la biophase sous l'influence de la liaison éléctrostatique qu'il donne avec le site anionique. Dès lors, les autres zones de la molécule s'orientent sur le récepteur selon un système de forces variées en même temps que sont expulsés certains ions ou molécules. La fixation d'équilibre est rarement immédiate et la petite molécule oscille de façon préliminaire entre différentes positions. Le passage de l'une à l'autre de ces positions se fait par l'intermédiaire de la phase aqueuse. Il se produit ainsi lors de chaque transition un partage entre le récepteur et la biophase. L'existence d'une chronologie de fixation caractérise ces partages successifs. Au fur et à mesure que l'on avance vers la position la plus stable, les molécules sont de plus en plus rares car à chaque étape elles peuvent aussi bien s'éloigner du récepteur que continuer leur " trajet ".

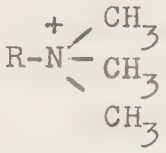
../..

On peut dire que l'affinité est la conséquence d'un flux de petites molécules dont l'intensité est liée à un optimum d'hydrophobie.

On peut considérer par ailleurs que l'affinité pour le récepteur est le résultat d'une famille d'occupations énergétiquement non équivalentes dont certaines sont sans doute limitées à l'interaction électrostatique et dont certaines font également intervenir des liaisons de moindre énergie.

Conséquences de l'hypothèse précédente ($H_{II,2}$)

I) Lorsqu'on examine les résultats cités dans les pages précédentes, on constate qu'il existe parfois dans une même série plusieurs optimum. Ainsi, par exemple, dans la série



les alkyltriméthylammoniumset les dérivés pour lesquels l'isomèrie stérique est importante se différencient des dérivés " normaux ".

Dans l'hypothèse précédente, il est vraisemblable que les positions d'équilibre les plus stables sont multiples. Il est logique* que les alkyltriméthylammoniums aient justement une position différente de celle des esters, éthers ou alcools homologues. Aussi est-il normal que les séquences de fixation (et par voie de conséquence l'optimum d'hydrophobie) soient particulières. En ce qui concerne les dérivés stéréoisomères, il est également clair que leur mode de fixation sur les récepteurs est très spécial puisque quatre points de liaison sont indispensables à l'état le plus stable. Dans l'hypothèse proposée, on peut imaginer que des partages successifs conduisent à une fixation progressive sur les divers sites actifs. Dans ce contexte, la fixation d'un dérivé dont la stéréoisomérie est influente peut conduire par exemple, dans une première série d'étapes, à l'établissement de la liaison électrostatique puis, dans une deuxième série, à une liaison hydrogène alors que la fin de mise en position serait en quelque sorte accelérée par la conquête brutale de deux sites de liaison. On pourrait

* En effet ces molécules ne renferment qu'un seul site actif -

../..

voir là une explication au caractère singulier de ces dérivés (12).

2) Une autre conséquence du processus proposé est en rapport avec la théorie des vitesses de PATON (28) (29) (30) et la critique faite à cette théorie par ARIENS (3).

Selon PATON (28) (29) (30) la vitesse de dissociation du complexe médicament récepteur renseigne sur le caractère agoniste ou antagoniste des produits (3). ARIENS par ailleurs note que la vitesse de dissociation des alkyltriméthylammoniums diffère des valeurs trouvées dans les autres séries (les alkyltriméthylammoniums antagonistes se dissocient très vite du récepteur).

Dans le contexte de l'hypothèse précédente, cette vitesse est directement liée aux étapes du processus de fixation, comme d'ailleurs l'optimum de π . Si la vitesse moyenne de dissociation de la plupart des agonistes diffère largement de celle des antagonistes il doit exister en réalité, dans chaque cas, plusieurs familles de vitesses de dissociation qui sont définies par les positions d'équilibre possibles. Les alkyltriméthylammoniums devraient prendre, compte tenu de leur formule, des positions peu spécifiques.

Remarques

I/- L'hypothèse précédente ne concerne absolument pas le problème d'identité entre récepteur des stimulants et récepteur des antagonistes puisque deux modes de fixation différents suffiraient à expliquer deux optimum d'hydrophobie différents. La théorie proposée par CHANGEUX, suivant laquelle il existerait un équilibre entre deux formes du récepteur (31) dont l'une est stabilisée par les agonistes et l'autre par les antagonistes est l'une des plus plausibles. Rien dans notre travail ne permet ni de confirmer, ni de critiquer cette description.

2/- L'existence d'un optimum d'hydrophobie propriété globale de la molécule n'exclut pas la présence " d'aires hydrophobes " sur le récepteur. En effet, la fixation des agents stéréospécifiques montre l'intérêt et les limites de cette notion. Les groupements hydrophobes des molécules ne se fixent pas dans n'importe quelles zones du récepteur. Certains points de fixation leur sont réservés. Ces derniers nous

../..

semblent toutefois plus définis par leurs positions et par leurs dimensions que par leur degré d'hydrophobie. Bien entendu, tout dépendra également de la fixation de la molécule au niveau des sites actifs essentiels ; tels substituants efficaces dans une série ne le seront pas dans une autre si telle aire hydrophobe ne leur est plus accessible de la même façon.

CONCLUSION : Nous avons conscience du caractère imagé parfois excessif de la description de chacune des hypothèses précédentes. Nous avons voulu engager à une nouvelle approche des problèmes de fixation sur le récepteur faisant largement état de l'environnement du site actif. Cet aspect, en effet, peut à notre avis s'avérer très caractéristique des phénomènes biologiques. Il est probable que l'importance du paramètre hydrophobe largement démontrée par HANSCH ne se limite pas à l'étude des processus de localisation in vivo mais concerne également le point d'impact des médicaments.

Vu et permis d'imprimer

MARSEILLE, le 19 juin 1972

Le Président,

F. BOREL

CHAPITRE IV

BIBLIOGRAPHIE DE LA III^{ème} PARTIE

I E.J. ARIENS (I964) Molecular Pharmacology - Academic Press

2 E.J. ARIENS (I966) Adv. Drug Res., 3 , p. 235

3 E.J. ARIENS et A.M. SIMONIS (I967) Ann.N.Y. Acad.Sci. I44,2,p.842

4 J.M. VAN ROSSUM et F.G. VAN DEN BRINK (I963) Arch.Int. Pharmacodyn. I43 , p.240

5 J.M. VAN ROSSUM (I963) Arch. Int. Pharmacodyn. I43 , p 299

6 B.M.J. ELLENBROEK, R.J.F. NIVARD, J.M. VAN ROSSUM et E.J. ARIENS (I965) J. Pharm. Pharmacol. I7, p.393

7 D.D. PERRIN (I965) Dissociation constants of organic bases in aqueous solution - Butterworths

8 P.N. CRAIG (I97I) J. Med. Chem. I4 , p. 680

9 E.J. LIEN, M. HUSSAIN et M.P. GOLDEN (I970) J. Med. Chem., I3, p. 623

I0 L.VILLA et V.FERRI (I968) Il Farmaco,23,5, p.44I

II F.W. SCHUELER (I953) Arch.Int. Pharmacodyn. 93 , p. 4I7

I2 F.B. ABRAMSON, R.B. BARLOW, M.G. MUSTAFA et R.P. STEPHENSON (I969) Br.J. Pharmac. 37 , p. 207

I3 L. DALL'ASTA et A.PEDRAZZOLI (I967) Bull. Chim. Ther.2, p.44I

I4 A,LEO, C. HANSCH et C. CHURCH (I969) J.Med.Chem. I2, p.766

I5 K. BOWDEN et R.C. YOUNG (I970) J. Med. Chem., I3 , p. 225

I6 P. DUCHÊNE-MARULLAZ, D. JOVANOVIC, N. BUSCH et J. VACHER (I963) Arch. Int. Pharmacodyn. I4, p. 465

I7 H.C. CALOWELL, J.A. KINKELSTEIN, P.P. GOLDMAN, A.J. SIVAK, J. SCHLOSSER, C. PELIKAN et W.G. GROVES (I970) J. Med. Chem. I3, p. I076

I8 P.N. CRAIG, H.C. CALDWELL et W.G. GROVES (I970) J. Med. Chem. I3 , p. I076

I9 H.C. CALDWELL, J.A. FINKELSTEIN, P.P. GROVES, P.J. CINALLI, J.S. LONG et P.W. EVERS (I970), 60 , p. II02

../..

20 F.G. VAN DEN BRINK (I969) Histamine and Antihistamines - Thèse Nimègue.

2I J.M. VAN ROSSUM (I968) in " Physico-chemical aspects of drug action " ed E.J. ARIENS p.287 Pergamon

22 C. HANSCH et E. COATS (I970) J. Pharm. Sci. 59 , N°6, p. 73I

23 M.I. KABACHNIK, A.P. BRESTKIN, N.N. GODOVIKOV, M.J. MICHELSON, E.V. ROZENGART et V.I. ROZENGART (I970) Pharm. Rev. 22,(3), p. 355

24 J.T. PENNISTON, L. BECKETT, D.L. BENTLEY et C. HANSCH (I969) Mol. Pharmacol. 5 , p. 333

25 J.M. Mac FARLAND (I970) J. Med. Chem. I3 , p. II92

26 M. KASAI et J.P. CHANGEUX (I970) C.R. Acad. Sci (Paris) 270 D,p.I400

27 A. REY (I97I) Labo Pharma Prob. et Techn. 202 , p. 48

28 W.D.M. PATON et A.P. RANG (I966) Adv. Drug. Res. , 3, p. 57

29 W.D.M. PATON (I967) Ann. N.Y. Acad. Sci. I39, p.632

30 W.D.M. PATON (I970) in " Molecular properties of Drug receptors " Ciba Foundation Symposium (Porter et O'Connor) p.3

3I J.P. CHANGEUX, J.C. MEUNIER et M. HUCHET (I97I) Mol. Pharmacol., 7 p. 538

C O N C L U S I O N S

Nous avons étudié, dans des séries de molécules agissant sur le récepteur muscarinique les " variations par zones " préalablement mises en évidence par ARIENS et ses Collaborateurs et avons complété les observations de ces auteurs en particulier en ce qui concerne le groupement aminé et la chaine centrale.

Au cours de ce travail, l'influence sur l'affinité des paramètres stériques électroniques et hydrophobes a été montrée sur divers exemples.

Nous avons observé, dans les séries antagonistes plusieurs corrélations entre le paramètre hydrophobe π et l'affinité. Il paraît y avoir peu de chance que ces corrélations soient dues au hasard, mais leur signification n'est pas pour autant éclaircie. Il parait difficile de lier ces résultats à une seule topographie d'aires hydrophobes.

L'existence d'un optimum d'hydrophobie, possédé par les molécules les plus actives d'une série qui fait penser à un phénomène de localisation peut remettre en question la réalité moléculaire du pA_2, indice évalué sur organe isolé. D'autres explications, plus plausibles à notre avis, sont proposées et conduisent à étudier les phases moléculaires de la fixation sur le récepteur. Certains résultats apparemment étonnants pourraient être expliqués de la sorte.